

# **Microencapsulação por *Spray Drying* de Compostos Bioativos de Subprodutos do Ananás**

**Cláudia Margarida Sales Garcia**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Engenharia Alimentar**

Orientadores: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins

Doutor Vitor Manuel Delgado Alves

**Júri:**

Presidente: Doutora Maria Luísa Louro Martins, Professora auxiliar no Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora auxiliar com agregação no Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Doutora Paula Maria dos Reis Correia, Professora adjunta na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu.

## Agradecimentos

---

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos sem os quais não se teria tornado uma realidade e aos quais estarei eternamente grata. Quero assim expor o meu respeito, admiração e consideração por todos os que interferiram no meu percurso académico agradecendo:

À Doutora Margarida Moldão pela orientação e confiança dadas durante a realização desta investigação.

Ao Doutor Vítor Alves pela clareza e rigor em solucionar os problemas e as dúvidas que foram surgindo ao longo do trabalho.

À Sofia Lourenço pela infinita disponibilidade, amizade e total dedicação bem como pela alegria com que me recebia todos os dias.

A todos os colegas de laboratório, sobretudo ao Luiz Corrêa pela ajuda, entusiasmo e boa disposição sempre presentes.

À Engenheira Isabel Nogueira, pela execução da microscopia eletrónica de varrimento.

A toda a minha família, tendo consciência que sozinha nada disto teria sido possível. Dirijo um especial agradecimento à minha querida mãe pelo apoio incondicional, incentivo e paciência demonstrados ao longo desta caminhada.

Ao meu namorado, João Cunha, pelo carinho e compreensão, tendo sido sempre uma pessoa incansável e pronta a ajudar.

Aos meus amigos que me acompanharam e proporcionaram momentos agradáveis e inesquecíveis, em particular às minhas amigas Solange Fragoso, Catarina Verdasca, Rita Lança, Diana Vale e Mariana Silva pelo companheirismo e apoio nos momentos difíceis durante os últimos anos.

**A todos, um enorme Obrigada!**

## Resumo

---

O Ananás (*Ananas cosmosus*) é um fruto tropical de elevada bioatividade, cujos compostos bioativos principais são: vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos.

Neste trabalho estudou-se o potencial de microencapsulação por *spray drying* dos compostos bioativos, presentes no coração e casca do ananás, utilizando a maltodextrina como agente encapsulante.

As condições de extração dos compostos bioativos usando água como solvente, foram otimizadas utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM). De acordo com os resultados obtidos, as condições ótimas que maximizam o grau de extração dos compostos fenólicos totais foram uma razão matéria prima-solvente na ordem de 1:6 e um tempo de extração de 25 minutos.

Para a otimização do processo de *spray drying* foi aplicado um desenho fatorial utilizando como variáveis independentes a temperatura do ar de entrada (130 °C e 150 °C) e a concentração de maltodextrina (15 % e 25 %). Os valores máximos de rendimento de secagem (28,3 %) e de eficiência de encapsulação (12 %) foram alcançados utilizando uma temperatura de entrada do ar de 150 °C e concentração de 25 % em maltodextrina.

As partículas produzidas por *spray drying* foram ainda caracterizadas em termos de morfologia (microscopia eletrônica de varrimento) e a análise das imagens identificou micropartículas esféricas com um diâmetro médio inferior a 10 µm.

Os resultados dos métodos DPPH e FRAP indicaram uma alteração do perfil fenólico após o processo de microencapsulação de compostos bioativos dos subprodutos do ananás por *spray drying*, utilizando maltodextrina como agente encapsulante.

**Palavras-chave:** Coração de ananás, casca de ananás, compostos bioativos, microencapsulação, *spray drying*.

## Abstract

---

Pineapple (*Ananas cosmosus*) is a tropical fruit with high bioactivity, which the most important bioactive compounds are: vitamin C, carotenoids and phenolic compounds.

In this work the potential of microencapsulation by spray drying of the bioactive compounds, from pineapple's core and rind, using maltodextrin as wall material was studied.

The extraction conditions of bioactive compounds using water as solvent were optimized by applying a Response Surface Methodology (RSM). According to the results, the optimal conditions that maximize the extraction degree of all the phenolic compounds were obtained with a ratio between raw material and solvent in of 1:6 with 25 minutes of extraction time.

In order to optimize the spray drying process, a factorial design using inlet air temperatures (130 °C e 150 °C) and maltodextrin concentrations (15 % and 25 %) as independent variables was applied. The highest drying process yield (28,3 %) and encapsulation efficiency (12 %) were obtained using an inlet air temperature of 150 °C and a maltodextrin's concentration of 25 %.

The particles were characterized in terms of morphology (Scanning Electron Microscopy) and the image analysis revealed microparticles with spherical shape with an average size below 10 µm.

The results of DPPH and FRAP methods showed phenolic profile changes after the microencapsulation process of bioactive compounds from pineapple's by-products by spray drying using maltodextrin as wall material.

**Key-words:** Pineapple core, pineapple rind, bioactive compounds, microencapsulation, spray drying.

## Índice

---

Agradecimentos .....	V
Resumo.....	II
Abstract.....	III
Índice .....	IV
Índice de Tabelas.....	V
Índice de Figuras.....	VII
Abreviaturas.....	IX
Capítulo 1 – Introdução .....	1
Capítulo 2 - Enquadramento Teórico.....	3
2.1. Ananás.....	3
2.2. Subprodutos do Ananás na Indústria Alimentar.....	6
2.3. Compostos Bioativos.....	8
2.3.1. Definição e classificação .....	8
2.3.2. Compostos bioativos presentes nos frutos .....	8
2.3.3. Atividade Antioxidante.....	14
2.4. Encapsulação de compostos bioativos por <i>spray drying</i> .....	16
2.4.1. Encapsulação .....	16
2.4.2. Agentes encapsulantes .....	17
2.4.3. <i>Spray Drying</i> .....	18
Capítulo 3 - Desenvolvimento Experimental.....	22
3.1. Otimização da extração de compostos hidrossolúveis dos subprodutos do ananás...22	
3.1.1. Subproduto.....	22
3.1.2. Delineamento experimental.....	22
3.1.3. Processo de Extração .....	23
3.1.4. Caracterização Físico-química .....	24

3.1.5. Análise estatística dos resultados.....	24
3.2. Caracterização do extrato obtido nas condições otimizadas .....	25
3.2.1. Determinação dos compostos fenólicos totais .....	25
3.2.2. Determinação da atividade antioxidante .....	26
3.3. Encapsulação do extrato por <i>spray-drying</i> .....	29
3.3.1. Parâmetros do processo.....	29
3.3.2. Processo do <i>spray-drying</i> .....	30
3.4. Caracterização das partículas obtidas por <i>spray drying</i> .....	31
3.4.1. Morfologia e tamanho das partículas .....	31
3.4.2. Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação (EE) dos compostos bioativos.....	31
3.4.3. Determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante após encapsulação .....	32
Capítulo 4 – Resultados e Discussão .....	33
4.1. Otimização das condições de extração e caracterização do extrato .....	33
4.1.1. Subproduto.....	33
4.1.2. Delineamento experimental .....	34
4.2. Produção de partículas através de <i>spray drying</i> .....	38
4.3. Caracterização das partículas obtidas por <i>spray drying</i> .....	40
4.3.1. Morfologia e tamanho das partículas .....	40
4.3.2. Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação (EE) dos compostos bioativos.....	47
4.3.3. Determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante antes e após encapsulação .....	49
Capítulo 5 – Conclusões e Trabalho Futuro .....	52
Referências Bibliográficas .....	55
ANEXOS .....	61

## Índice de Tabelas

---

Tabela 1 Composição química e nutricional por 100 g da parte edível do ananás fresco. Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1993. ....	4
Tabela 2 - Principais compostos funcionais presentes nos frutos tropicais (adaptado de Ayla-Zavala <i>et al.</i> , 2011).....	9
Tabela 3 - Principais classes dos compostos fenólicos de acordo com a sua cadeia de carbono (adaptado de Giada, 2013).....	10
Tabela 4 – Estrutura química dos carotenoides (adaptado de Fernández-Garcia <i>et al.</i> 2012) .....	13
Tabela 5 - Matriz codificada e decodificação para as variáveis estudadas. ....	23
Tabela 6 – Desenho factorial das variáveis independentes.....	30
Tabela 7 – Composição da humidade dos subprodutos do ananás.....	33
Tabela 8 – Resultados ANOVA para otimização do extrato do coração e casca do ananás.	34
Tabela 9 – Rendimento de secagem por <i>spray drying</i> dos extratos de coração e casca de ananás com maltodextrina. ....	38
Tabela 10 - Tamanho médio, em $\mu\text{m}$ , das partículas produzidas.....	46
Tabela 11 – Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação dos compostos bioativos do coração de ananás. ....	47
Tabela 12 - Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação dos compostos bioativos da casca de ananás. ....	47
Tabela 13 – Resultados dos métodos direto, Folin, DPPH e FRAP antes e após encapsulação para o coração.....	49
Tabela 14 - Resultados dos métodos direto, Folin, DPPH e FRAP antes e após encapsulação para a casca.....	50

## Índice de Figuras

Figura 1 – <i>Ananas cosmosus</i> .	3
Figura 2 - Utilização industrial do Ananás (adaptado de Py <i>et al.</i> 1969).	5
Figura 3 – Estrutura (A) Ácido Ascórbico, (B) Ácido Desidroascórbico (adaptado de Rosa <i>et al.</i> 2007)	12
Figura 4 – Estrutura das micropartículas (adaptado de Matté e Rosa, 2013).	16
Figura 5 – Morfologia dos diferentes tipos de microcápsulas: A – simples, B – irregular, C – vários núcleos, D – várias membranas (adaptado de Gharsallaoui <i>et al.</i> , 2007).	17
Figura 6 – Esquema do <i>Spray drying</i> Lab-Plant SD 05, Huddersfield (adaptado de Souza <i>et al.</i> 2008)	19
Figura 7 – Diagrama da produção de partículas por <i>spray drying</i> .	29
Figura 8 – Diagrama da caracterização das partículas.	31
Figura 9 - Superfície de resposta do teor de compostos fenólicos ( $Y_1$ ) em função do tempo ( $X_1$ ) e da massa de solvente ( $X_2$ ). (A) Coração; (B) Casca.	36
Figura 10 - Superfície de resposta do teor de sólidos solúveis totais ( $Y_2$ ) em função do tempo ( $X_1$ ) e da massa de solvente ( $X_2$ ). (A) Coração; (B) Casca.	36
Figura 11 – Fenóis Totais dos subprodutos.	37
Figura 12 – Sólidos Solúveis Totais dos subprodutos.	37
Figura 13 – Imagens SEM das partículas com extrato de coração $A_1$ (25 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	40
Figura 14 – Imagens SEM das partículas com extrato de coração $A_2$ (25 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	41
Figura 15 - Imagens SEM das partículas com extrato de coração $A_3$ (15 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	41
Figura 16 - Imagens SEM das partículas com extrato de coração $A_4$ (15 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	41
Figura 17 – Imagem SEM das partículas com extrato de coração $A_1$ (25 %, 150 °C) x 2000.	42
Figura 18 - Imagens SEM das partículas com extrato de casca $A_1$ (25 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	42
Figura 19 - Imagens SEM das partículas com extrato de casca $A_2$ (25 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.	42



Figura 20 - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A <sub>3</sub> (15 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.....	43
Figura 21 - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A <sub>4</sub> (15 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.....	43
Figura 22 - Histogramas da distribuição dos diâmetros das partículas com extratos de coração produzidas a diferentes condições. A <sub>1</sub> : 25 %, 150 °C; A <sub>2</sub> : 25 %, 130 °C; A <sub>3</sub> : 15 %, 130 °C; A <sub>4</sub> : 15 %, 150 °C. ....	44
Figura 23 - Histogramas da distribuição dos diâmetros das partículas com extratos de casca produzidas a diferentes condições. A <sub>1</sub> : 25 %, 150 °C; A <sub>2</sub> : 25 %, 130 °C; A <sub>3</sub> : 15 %, 130 °C; A <sub>4</sub> : 15 %, 150 °C. ....	45

## Abreviaturas

---

L-AA	Ácido Ascórbico
DHAA	Ácido Desidroascórbico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FRAP	2,4,6-tripiridil-s-triazina
DE	Dextrose Equivalente
AOAC	Association of Analytical Chemistry, Official methods of Analysis
EAG	Equivalente Ácido Gálico
SST	Sólidos Solúveis Totais
RSM	Metodologia de Superfície de Resposta
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
RSA	Radical Scavenging Activity
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina
SEM	Scanning Electron Microscopy
MD	Maltodextrina
EX	Extrato
SD	Spray Drying
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

## Capítulo 1 – Introdução

---

Os compostos bioativos com atividade antioxidante são utilizados na indústria alimentar, quer por questões tecnológicas, quer para conferir maior funcionalidade aos alimentos. A nível tecnológico, a utilização de antioxidantes torna-se por vezes indispensável para prevenir fenómenos indesejáveis que conduzem à perda de qualidade sensorial e/ou nutricional nos alimentos. Por outro lado, a prevenção de certas doenças é atribuída em parte à presença de compostos bioativos, tais como compostos fenólicos com atividade antioxidante. No entanto, para que a atividade destes compostos seja eficiente é necessário que se mantenham estáveis durante o processo, distribuição e armazenamento do alimento até ao seu consumo.

Os frutos e produtos hortícolas são no geral fontes de antioxidantes naturais. O ananás (*Ananas cosmosus*) é um fruto tropical com elevados teores de compostos bioativos, principalmente vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos. A industrialização do ananás gera elevados volumes de subprodutos que justificam a sua valorização por parte das indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética, através da extração dos compostos bioativos.

Atendendo à baixa estabilidade e fácil degradação dos compostos bioativos torna-se necessário procurar soluções que promovam a sua estabilização, e ao mesmo tempo, que não interfiram adversamente nas propriedades dos alimentos nos quais poderão ser incorporados.

Neste sentido, o processo de microencapsulação por *spray drying* tem sido estudado na preservação dos compostos bioativos. O sucesso desta técnica envolve o estabelecimento de certas condições como a escolha do agente encapsulante e respectivas concentrações e a temperatura do processo.

Considerando o que foi mencionado anteriormente, o principal objetivo deste trabalho consistiu na microencapsulação de compostos bioativos de subprodutos de ananás numa matriz de maltodextrina por *spray drying*. Para tal, foram considerados os seguintes objetivos específicos:

- Otimizar as condições de extração aquosa dos compostos bioativos de subprodutos do ananás (coração e casca) utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM);

- Caracterizar os extratos aquosos do coração e casca de ananás sob o ponto de vista físico-químico;
- Estudar o processo de microencapsulação por *spray drying*, variando a concentração de matriz de encapsulação (maltodextrina) e a temperatura do ar de entrada;
- Caracterizar as micropartículas produzidas em termos da morfologia;
- Determinar o teor de compostos fenólicos encapsulados nas micropartículas e a sua atividade antioxidante, de modo avaliar o efeito do processo de microencapsulação nesta propriedade.

## Capítulo 2 - Enquadramento Teórico

---

### 2.1. Ananás

O Ananás (*Ananas cosmosus*) é um fruto tropical que pertence à família das Bromeliáceas (*Bromeliaceae*), é nativo da América do Sul e o seu crescimento dá-se em países situados nas regiões tropicais e subtropicais (Morton, 1987).

A planta do ananás pode crescer até 1,5 m de altura, o tronco é curto e robusto e as folhas são longas, com 50-180 cm, normalmente pontiagudas, totalmente verdes ou com manchas amarelas no meio ou perto das margens (figura 1).



**Figura 1** – *Ananas cosmosus*.

O fruto atinge cerca de 30 cm de comprimento e 1,5 kg. A casca é dura, com pontas hexagonais e apresenta uma coloração que varia desde o verde-escuro a amarelo-alaranjado, quando o fruto está maduro. A polpa é succulenta e a cor varia do quase branco a amarelo. No ápice cresce um tufo compacto de folhas duras que se denominam por “coroa”. (Morton, 1987).

De acordo com Morton (1987), as cultivares de ananás podem ser agrupadas em quatro classes principais: “Smooth Cayenne”, “Red Spanish”, “Queen Victoria” e “Pernambuco” (Suzihaque, Hashib e Ibrahim, 2015).

A nível nutricional o ananás contém diversos compostos com elevada bioatividade, como vitaminas (por exemplo, ácido ascórbico), fibras, carotenoides, compostos fenólicos e minerais. Possui também uma elevada capacidade antioxidante, consequência da sua

composição em compostos antioxidantes, nomeadamente em vitamina C (15-55 mg / 100 g) (Mhatre *et al.*, 2009).

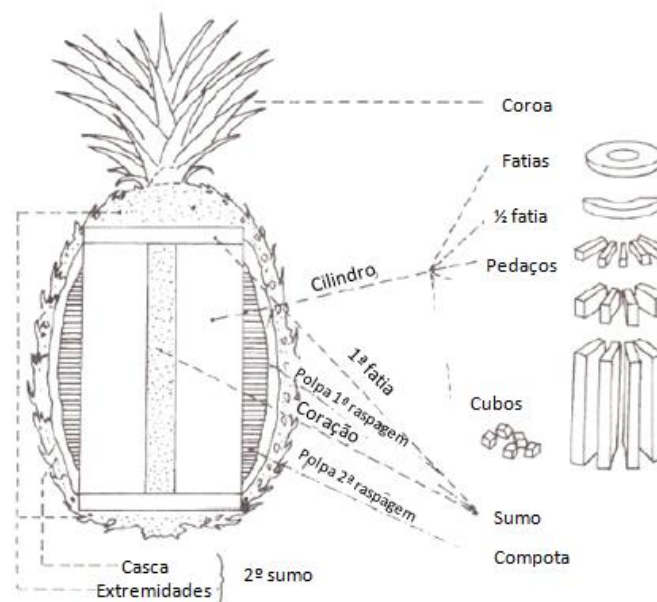
A caracterização química e nutricional base do ananás encontra-se na tabela 1.

**Tabela 1** Composição química e nutricional por 100 g da parte edível do ananás fresco. Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2015.

	Valor por 100g	Unidades
<b>Valor Energético</b>	201	kJ
	48	kcal
<b>Macroconstituintes</b>		
Água	87,6	g
Lípidos	0,2	g
Hidratos de Carbono	9,5	g
Sacarose	6,7	g
Fibra	1,2	g
Proteína	0,5	g
<b>Vitaminas</b>		
Vitamina A	3	µg
Caroteno	20	µg
a-tocoferol	0,1	mg
Tiamina	0,04	mg
Riboflavina	0,03	mg
Niacina	0,6	mg
Vitamina B6	0,09	mg
Vitamina C	16	mg
<b>Minerais</b>		
Cinza	0,2	g
Sódio (Na)	2	mg
Potássio (K)	160	mg
Cálcio (Ca)	18	mg
Fósforo (P)	7	mg
Magnésio (Mg)	13	mg
Ferro (Fe)	0,3	mg
Zinco (Zn)	0,1	mg

O ananás é um fruto tropical consumido em todo o mundo, podendo ser consumido fresco ou processado industrialmente, resultando em: polpas, sumos, compotas, granizados, pudins, recheios, gelados, saladas de fruta, entre outras (Medina e García, 1999).

O processamento do ananás produz elevados volumes de subprodutos. Na figura 2 apresenta-se um esquema da utilização industrial do ananás.



**Figura 2** - Utilização industrial do Ananás (adaptado de Py *et al.* 1969).

## 2.2. Subprodutos do Ananás na Indústria Alimentar

Os subprodutos são resíduos gerados na indústria transformadora que, no caso do ananás, consistem nas cascas, nas extremidades, no coração e nas polpas de 2ª raspagem. Estes resíduos podem causar problemas ambientais se não forem devidamente utilizados, havendo investigações e estudos recentes que apontam a uma maior eficiência nesta fase do processo (Hajar *et al.* 2012).

Nas indústrias de processamento de ananás cerca de 60% do fruto fresco é edível (Samson, 1986) e 25-35 % do fruto são subprodutos compostos principalmente por casca e coração (Larrauri, Rupérez e Calixto, 1997; Selani *et al.* 2016). De acordo com Martínez *et al.* (2012) o componente maioritário das cascas e coração do ananás é a fibra dietética (75,8 %) que pode ser extraída e incorporada noutros produtos alimentares, originando alimentos funcionais.

As cascas, resultantes do processamento do ananás, representam cerca de 10 % (w/w) do peso original do fruto (Kareem, Akpan e Alebiowu, 2010) e apresentam um forte potencial de reciclagem para outras indústrias, pois contêm celulose, hemicelulose e outros hidratos de carbono em quantidades suficientes para produzir bioetanol (Gimeno, Seguí e Fito, 2010; Hajar *et al.* 2012).

Os compostos bioativos encontram-se distribuídos pelos resíduos do ananás, e têm um elevado interesse em diversos tipos de indústria, nomeadamente na indústria alimentar, onde estes podem ser utilizados diretamente nos alimentos como aditivos e na produção de revestimentos de frutas e vegetais após a colheita (Schieber, Stintzing e Carle, 2001). Podem ainda ser usados na produção de embalagens bioativas, originando alimentos mais saudáveis e com maior tempo de prateleira (Lopez-Rubio, Gavara e Lagaron, 2006).

Segundo Guimarães *et al.* (2010), existem nas cascas compostos bioativos em maior quantidade do que nas polpas dos frutos e, embora sejam consideradas um subproduto, são fonte de diversos compostos químicos com atividade biológica, destacando-se a atividade antioxidante. Assim, a valorização das cascas na forma de extrato ou outras pode ser empregue sob a forma de “aditivos alimentares”, como antioxidantes naturais, apresentando um efeito sinérgico em formulações de diversos alimentos processados.

Além disso, os resíduos podem ser reaproveitados para obter matéria-prima para outras indústrias, como por exemplo, a produção de ração, após tratamento biológico (Abdullah 2007; Hajar *et al.* 2012).



A fibra que se encontra nas folhas do ananás é usada na produção de papel e têxteis de alta qualidade (Tran, 2006).

A clorofila A, presente em elevadas quantidades na coroa do ananás, é utilizada como pigmento em vários géneros alimentícios (Tran, 2006).

## **2.3. Compostos Bioativos**

### **2.3.1. Definição e classificação**

Os compostos do sistema biológico incluem, por um lado, os metabolitos primários, que são as substâncias químicas destinadas ao crescimento e desenvolvimento, tais como os glúcidos, os aminoácidos, as proteínas e os lípidos, e por outro lado, os metabolitos secundários, que apesar de não estarem diretamente envolvidos nos processos dos organismos, são definidos como substâncias que têm efeito no sistema biológico. Nas plantas, os metabolitos secundários aumentam a sua capacidade de sobrevivência e, apesar de não terem função direta de crescimento, são frequentemente produzidos numa fase subsequente ao crescimento, apresentando estruturas químicas complexas, por vezes formadas como misturas ou como derivados de uma determinada família de compostos (Azmir, 2013).

Entre os metabolitos secundários, os que possuem efeitos benéficos sobre os sistemas biológicos são considerados como bioativos. Segundo Azmir *et al.* (2013), os compostos bioativos podem ser divididos em três grandes categorias: terpenos e terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos.

### **2.3.2. Compostos bioativos presentes nos frutos**

Os compostos bioativos, também denominados funcionais, presentes nos frutos tropicais em maior quantidade são compostos fenólicos, vitamina C e carotenoides (tabela 2), (Gonzalez-Aguilar, 2008).

**Tabela 2** - Principais compostos funcionais presentes nos frutos tropicais (adaptado de Ayla-Zavala *et al.*, 2011).

Composto	Formas	Solubilidade	Referências
Compostos fenólicos	Ácidos fenólicos Flavonóides Ligninas Estilbenos	Hidrossolúvel	Balasundram et al. (2006)
Ácido Ascórbico	Ácido Ascórbico Ácido desidroascórbico	Hidrossolúvel	Jacobsen, Adler-Nissen, and Meyer (1999); Pokorny, Yanishlieva, and Gordon (2001)
Carotenoides	Carotenos Xantofilas	Lipossolúvel	Jim and Hong-Shum (2003); Krinsky and Johnson (2005)

De um modo geral, a vitamina C está uniformemente distribuída nos frutos, os carotenoides estão presentes principalmente na superfície dos tecidos, enquanto os compostos fenólicos apesar de maioritariamente localizados nas cascas surgem em menor quantidade na polpa (Kalt, 2005).

No caso do ananás, a sua bioatividade está relacionada com a presença de certos compostos, tais como polifenóis e ácido ascórbico, os quais contribuem para a atividade antioxidante do fruto (Yuris e Siow, 2014).

### 2.3.2.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos constituem um dos maiores grupos dos metabolitos secundários e encontram-se amplamente distribuídos na natureza, sendo constituídos por um conjunto de moléculas que possuem pelo menos um anel aromático, com um ou vários substituintes hidroxilo. Uma característica comum dos compostos fenólicos é a sua frequente ligação com açúcares ou proteínas (Giada, 2013).

A classificação dos compostos fenólicos pode ser feita de diversas formas, uma vez que são constituídos por um elevado número de estruturas heterogêneas, desde moléculas simples a compostos altamente polimerizados.

De acordo com a cadeia de carbono, os compostos fenólicos podem ser divididos em 16 grandes classes (tabela 3).

**Tabela 3** - Principais classes dos compostos fenólicos de acordo com a sua cadeia de carbono (adaptado de Giada, 2013).

Class	Basic skeleton	Class	Basic skeleton
Fenólicos Simples, Benzoquinonas	C <sub>6</sub>	Estilbenos, antraquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Ácidos hidroxibenzoicos	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Flavonóides, isoflavonóides	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Lignanas, neolignanas	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Nafitoquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Ligina	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Xantonas	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Taninos condensados	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

Por outro lado, de acordo com a distribuição na natureza, os compostos fenólicos podem ser divididos em três classes: pouco distribuídos, como os fenóis simples, amplamente distribuídos, principalmente flavonóides e ácidos fenólicos, e polímeros (Giada, 2013).

E ainda podem ser classificados como solúveis (fenóis simples, flavonóides e alguns taninos) ou insolúveis (taninos complexos e ácidos fenólicos). Esta classificação é útil do ponto de vista nutricional, uma vez que os compostos fenólicos insolúveis não são digeridos, enquanto uma parte dos solúveis consegue atravessar a barreira intestinal e podem ser encontrados no sangue, inteiros ou como metabolitos (Sánchez-Moreno, 2002).

### Flavonóides

As classes de flavonóides mais importantes são os flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanas, isoflavonoides e antocianinas. Algumas dessas classes são incolores, no entanto, existem flavonóides responsáveis pela pigmentação das plantas. São também conhecidos por apresentarem forte capacidade antioxidante (Sánchez-Moreno, 2002; Giada, 2013).

### Taninos

Os taninos podem-se catalogar em dois grandes grupos, os taninos hidrossolúveis e os taninos condensados.

Apesar de lhes ser reconhecida uma menor capacidade antioxidante em comparação com os flavonóides, estudos recentes têm demonstrado que os taninos hidrossolúveis e condensados de elevado peso molecular podem possuir uma capacidade antioxidante bastante superior à dos fenóis simples (Sánchez-Moreno, 2002; Giada, 2013).

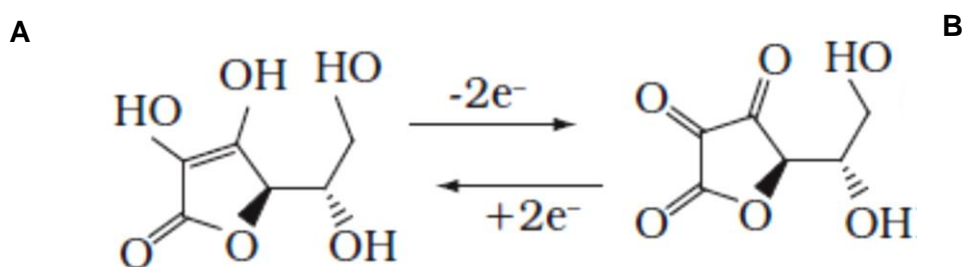
### Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: ácidos hidroxibenzóicos, constituídos por sete átomos de carbono e ácidos hidroxicinâmicos, com nove átomos de carbono. Os ácidos hidroxibenzóicos encontram-se em maior quantidade nas frutas e vegetais, e dentro deste grupo destaca-se o ácido gálico.

No geral, os ácidos fenólicos têm uma elevada atividade antioxidante e constituem cerca de um terço dos compostos fenólicos totais na dieta humana (Sánchez-Moreno, 2002; Giada, 2013).

#### **2.3.2.2. Ácido Ascórbico**

A vitamina C refere-se a todos os compostos que exibem equivalente atividade biológica ao ácido ascórbico (L-AA), incluindo os seus produtos de oxidação (ácido desidroascórbico, DHAA), isómeros, ésteres e formas sintéticas. O ácido L-ascórbico (figura 3-A) é a forma principal da vitamina biologicamente ativa e é facilmente oxidado em DHAA (figura 3-B), envolvendo a doação de eletrões e a formação do radical livre, e o processo de oxidação pode ser induzido pela exposição a altas temperaturas, meio alcalino, luz, presença de oxigénio ou metais ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) e ação enzimática (Rosa *et. al.*, 2007, Spínola, Llorent-Martínez e Castilho, 2014).



**Figura 3** – Estrutura (A) Ácido Ascórbico, (B) Ácido Desidroascórbico (adaptado de Rosa *et al.* 2007)

Os seres humanos fazem parte do grupo de seres vivos que não são capazes de sintetizar vitamina C e por isso necessitam da ingestão diária de frutas e vegetais (fonte natural de vitaminas). A dieta recomendada é de 75 e 90 mg / dia para um adulto homem e mulher, respetivamente (Spínola, Llorent-Martínez e Castilho, 2014).

O ácido ascórbico é uma das vitaminas hidrossolúveis mais importantes para a saúde humana, reconhecida pela sua atividade antioxidante, dado que participa em muitas atividades bioquímicas e pode prevenir o envelhecimento, as cataratas, arteriosclerose, cancro e doenças cardiovasculares (Couto e Canniatti-Brazaca, 2010).

A vitamina C é ainda aplicada na indústria alimentar como aditivo, impedindo a oxidação dos produtos alimentares. Quando aplicado em frutas e vegetais minimamente processados, o ácido ascórbico inibe a atividade da polifenoloxidase, prevenindo o escurecimento dos produtos alimentares e atua como agente antimicrobiano contra microrganismos psicrófilos e mesófilos (Rico *et al* 2007).

### 2.3.2.3. Carotenoides

Os carotenoides representam uma diversidade de pigmentos presentes na natureza, desde frutas, vegetais, fungos e flores, responsáveis pelas cores desde o amarelo ao vermelho. Os carotenoides são classificados como tetraterpenóides com 40 átomos de carbono, sendo que os carotenos são compostos apenas por átomos de carbono e hidrogénio e os carotenoides oxidados ou xantofilas apresentam grupos carboxilo, metoxilo, hidroxilo ou cetona (Uenojo, Junior e Pastore, 2007).

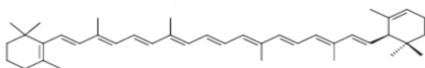
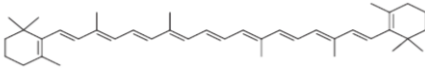
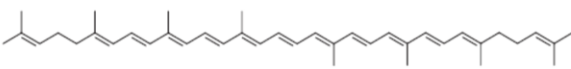
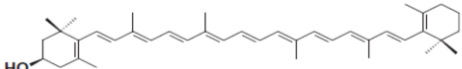
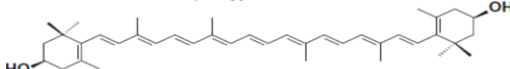
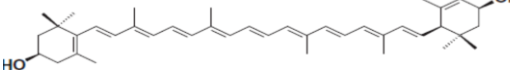
Na natureza já foram descritos mais de 700 espécies de carotenoides, contudo apenas uma pequena parte surge na nossa dieta. Nos alimentos, o conteúdo em carotenoides varia de

acordo com a espécie mas também com fatores naturais, tais como luz, solo e grau de maturação (Fernández-Garcia *et al.* 2012).

Na saúde humana, a importância dos carotenoides está relacionada com as suas ações como precursor de vitamina A, antioxidante e função imunológica. Animais e humanos não conseguem sintetizar os carotenoides mas conseguem metabolizar alguns deles em forma de vitamina A. A estrutura dos carotenoides exerce grande influência sobre a atividade antioxidante, que aumenta diretamente com o número de ligações duplas conjugadas, grupos cetona e com a presença de anéis na sua estrutura. Muitos estudos comprovam a relação entre a ingestão de carotenoides com melhorias no sistema imunitário e redução do risco de algumas doenças degenerativas, tais como cancro, doenças cardiovasculares, cataratas e degeneração macular (Uenojo, Junior e Pastore, 2007; Dias, Camões e Oliveira 2008).

Os carotenoides frequentemente encontrados em frutas e vegetais são:  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno,  $\beta$ -criptoxantina, zeaxantina e luteína (tabela 4), sendo o  $\beta$ -caroteno o composto que apresenta maior atividade biológica.

**Tabela 4** – Estrutura química dos carotenoides (adaptado de Fernández-Garcia *et al.* 2012)

Composto	Estrutura Química
$\alpha$ -caroteno	
$\beta$ -caroteno	
Licopeno	
$\beta$ -criptoxantina	
Zeaxantina	
Luteína	

### 2.3.3. Atividade Antioxidante

Os compostos antioxidantes desempenham um papel de defesa no organismo, pois são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres (substâncias que reagem facilmente com o oxigênio) antes que ataquem os alvos biológicos nas células (Sousa *et al.* 2007).

Existem, atualmente, antioxidantes de síntese e antioxidantes naturais.

Antioxidantes naturais são aqueles que são extraídos de tecidos de plantas e de animais ou que se formam durante o processamento de produtos alimentares de origem vegetal ou animal.

O efeito deletério dos antioxidantes sintéticos no organismo animal, quando usado em doses elevadas, suscitou um interesse crescente na pesquisa de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais. Além dos possíveis riscos que o uso irregular e/ou indiscriminado dos antioxidantes sintéticos podem acarretar ao homem, soma-se a substituição total ou parcial destes antioxidantes aplicados como aditivos sintéticos em produtos alimentares. Por conseguinte, tem sido dado ênfase à identificação e purificação de antioxidantes naturais que possam agir sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como forma de prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e restringir a utilização dos antioxidantes sintéticos (Broinizi *et al.*, 2007; Hossain e Rahman, 2010). Estudos demonstram que os antioxidantes naturais possuem efeitos significativos na prevenção de doenças como problemas cardiovasculares, cancro e doenças neurodegenerativas (Karakaya, 2004).

Além da função ao nível da saúde, os compostos antioxidantes apresentam um papel de grande importância na qualidade e segurança alimentar, uma vez que, em determinadas concentrações, retardam ou inibem a oxidação de substratos oxidáveis presentes em géneros alimentícios e, consequentemente, aumentam o tempo de vida útil dos mesmos (Broinizi *et al.*, 2007; Hossain e Rahman, 2010).

Os antioxidantes encontram-se naturalmente em todas as frutas. A presença de compostos fenólicos, tais como flavonóides, isoflavonas, flavonas, antocianinas, catequinas entre outros fenólicos, além das vitaminas C, E e carotenoides, contribuem para o efeito benéfico das frutas (Hossain e Rahman, 2010). No que concerne ao grande grupo dos compostos fenólicos, os flavonóides e os ácidos fenólicos são os que mais se destacam e, como tal,



são considerados os antioxidantes fenólicos mais comuns de fontes naturais (Broinizi *et al.* 2007).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. O mecanismo de atividade antioxidante destes compostos consiste na cedência de um átomo de hidrogénio aos radicais livres, que permite quebrar as reações de propagação da oxidação. O radical fenólico que se forma é menos reativo e relativamente mais estável, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura dos compostos fenólicos (Sousa *et al.* 2007).

O teor de compostos fenólicos totais está relacionado com a atividade antioxidante. Os testes disponíveis para avaliar este propósito envolvem diferentes mecanismos do sistema de defesa antioxidante e por isso, diversos estudos utilizaram diferentes métodos para avaliar a capacidade antioxidante das amostras, tais como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e o FRAP (2,4,6-tripiridil-s-triazina) (Infante, J. *et al.* 2013).

## 2.4. Encapsulação de compostos bioativos por *spray drying*

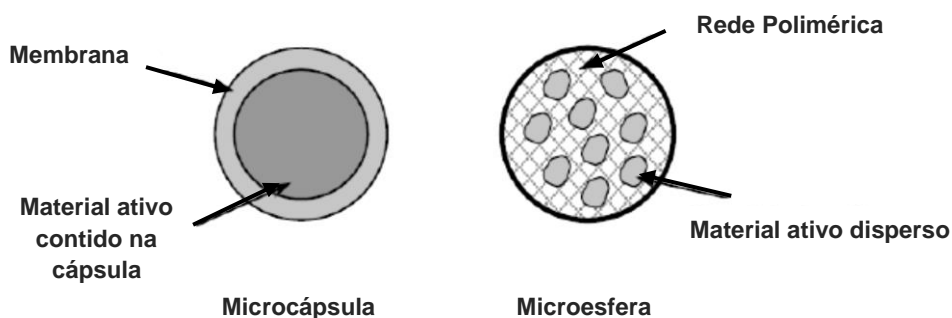
### 2.4.1. Encapsulação

Hoje em dia é possível proteger os compostos bioativos, aumentando a sua estabilidade, a partir de técnicas de encapsulação. Ao longo das décadas, a microencapsulação por *spray drying* foi utilizada com sucesso na indústria alimentar, sendo que a primeira referência data o ano de 1930, que teve como objetivo a microencapsulação de sabores utilizando goma arábica como matriz (Gouin, 2004; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

A encapsulação é a tecnologia através da qual pequenas partículas ou gotículas são envolvidas por um agente encapsulante, de modo a formar micropartículas com diversas propriedades benéficas. Assim, a encapsulação proporciona uma barreira física entre o material que se encontra dentro da microcápsula e os restantes componentes do produto.

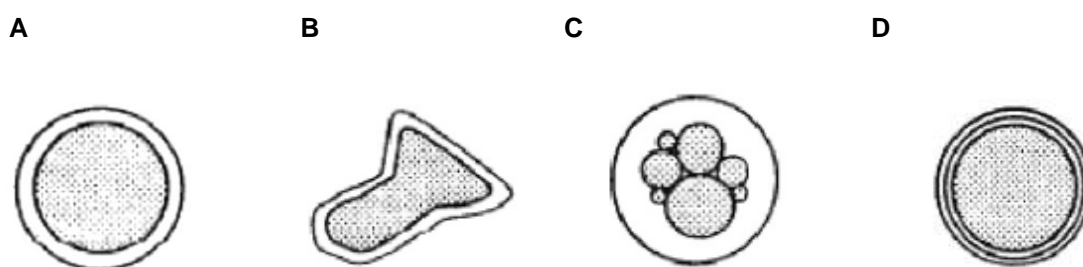
A partícula é referida por diferentes autores de forma diversificada. Entre as diferentes designações para o seu conteúdo destaca-se o núcleo, o recheio, a carga ou o material ativo. Já o agente encapsulante denomina-se como material de parede, invólucro, membrana, revestimento ou matriz (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

A estrutura das micropartículas é dividida em microesferas e microcápsulas, segundo a sua estrutura. São denominadas microesferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica, na qual o material ativo encontra-se distribuído no estado sólido. Já as microcápsulas são as partículas constituídas por um núcleo interno contendo o agente ativo recoberto por uma camada de um polímero de espessura variável (figura 4) (Matté e Rosa, 2013).



**Figura 4** – Estrutura das micropartículas (adaptado de Matté e Rosa, 2013).

As microcápsulas são pequenas esferas de tamanho variável entre 1 e 100  $\mu\text{m}$ . Na verdade, esta variação depende dos materiais e métodos escolhidos, assim, dependendo das propriedades físico-químicas do núcleo, da composição da parede e da técnica de microencapsulação, pode-se obter diferentes tipos de partículas (figura 5).



**Figura 5** – Morfologia dos diferentes tipos de microcápsulas: A – simples, B – irregular, C – vários núcleos, D – várias membranas (adaptado de Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Na indústria alimentar, aplica-se a microencapsulação por diversas necessidades, tais como: (i) proteger o material encapsulado contra os agentes atmosféricos (luz, humidade, calor, oxigénio) através da redução da sua reatividade, (ii) diminuição da velocidade de evaporação do material ativo para o exterior, (iii) facilitar a manipulação pela modificação das características físicas do material original, (iv) promover a libertação controlada e direcionada de determinadas substâncias, (v) dissimular propriedades indesejáveis como sabores e odores desagradáveis, (vi) diluição do material encapsulado, quando são necessárias pequenas quantidades, e ainda assim manter um produto final homogêneo (Gouin 200; Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

#### 2.4.2. Agentes encapsulantes

A escolha do material encapsulante é um dos principais fatores que contribui para a eficiência da encapsulação e estabilidade da microcápsula. O sistema do agente encapsulante é projetado para proteger o interior da microcápsula contra os agentes externos, para permitir uma libertação controlada e limitar a volatilidade dos compostos (Gharsallaoui *et al.* 2007).

A natureza do material deve ser selecionada de acordo com o método de encapsulação escolhido e com base nas propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, peso molecular, cristalinidade, difusibilidade, temperaturas de transição de fase, formação do

filme e propriedades emulsionantes. Deste modo, o material usado como agente encapsulante deve apresentar as seguintes características: (i) baixa viscosidade, (ii) elevada solubilidade em água, (iii) fácil manuseamento durante o processo, (iv) baixa higroscopicidade para evitar a aglomeração, (v) compatibilidade com o composto ativo, (vi) boa capacidade de retenção, (vii) proteção do composto sob condições ambientais adversas, (viii) ser neutro no sabor ou apresentar propriedades organoléticas desejadas e, (ix) ser económico (Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

No processo de encapsulação a possibilidade de escolha dos materiais encapsulantes é bastante vasta e composta por diversos materiais, tais como gomas naturais (goma arábica, agar, alginato de sódio, carragenina, etc.), proteínas (soro de leite, gelatina, caseína, albumina, etc.), hidratos de carbono (amido, maltodextrinas, sacarose, etc.) e lípidos (cera, parafina, óleos, etc.) (Gharsallaoui *et al.* 2007).

Na técnica de microencapsulação por *spray drying*, os materiais mais utilizados são os polissacáridos, sendo a maltodextrina o agente encapsulante mais comum na produção de micropartículas contendo extratos de ananás (Gabas *et al.*, 2007; Jittanit, Niti-Att e Techanuntachaikul, 2010; Hashib *et al.*, 2015; Suzihaque, Hashib e Ibrahim, 2015; Wong, Pui e Ng., 2015).

A maltodextrina ( $C_{6n}H_{(10n+2)}O_{(5n+1)}$ ) é composta por unidades D-glucose ligadas por cadeias glicosídicas  $\alpha$ -1,4 e a sua classificação é feita de acordo com equivalentes em dextrose (DE). A maltodextrina é altamente solúvel em água e resulta da hidrólise parcial do amido de milho com ácidos e/ou enzimas (Jittanit, Niti-Att e Techanuntachaikul, 2010). Segundo Silva *et al.*, a maltodextrina pode melhorar a estabilidade do pó resultante do *spray drying* dos extratos de fruta com elevados teores de açúcar.

### 2.4.3. *Spray Drying*

A técnica *spray drying* é bastante utilizada na indústria alimentar, uma vez que o seu procedimento é rápido, fácil de reproduzir e o custo é relativamente reduzido, quando comparado com as restantes tecnologias de encapsulação. Assim, o *spray drying* aparece como solução aos problemas de secagem convencionais, porque é um método eficiente na produção de partículas e económico (Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

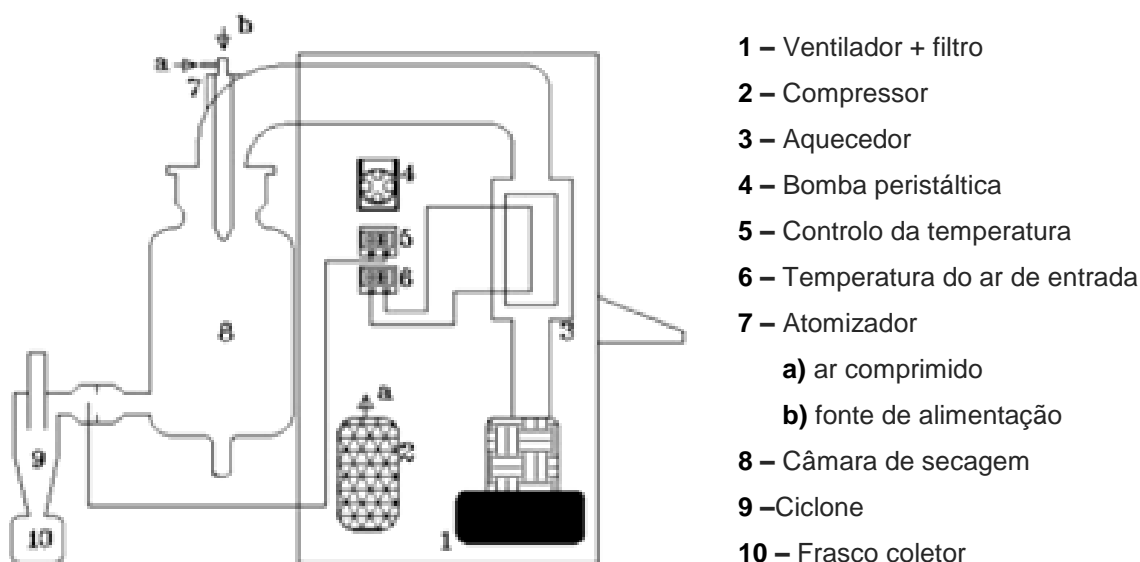
O princípio do *spray drying* consiste na atomização de um líquido em contacto com uma corrente de ar quente, produzindo instantaneamente um pó - microcápsulas. Este princípio é

muito utilizado na indústria alimentar para garantir a estabilidade microbiológica dos produtos, evitar o risco de degradações químicas e/ou biológicas, reduzir custos de armazenamento e transporte e obter um produto com propriedades específicas, como por exemplo a solubilidade instantânea (Gharsallaoui *et al.* 2007).

O processo de microencapsulação por *spray drying* envolve três passos básicos: preparação da dispersão ou emulsão, homogeneização e atomização dentro da câmara de secagem.

O primeiro passo consiste na dispersão do material ativo numa solução que contém o agente encapsulante. De seguida, é necessário homogeneizar a dispersão. Por fim, a solução é atomizada a partir de um fluxo de ar quente e, em conjunto com a evaporação da água, formam-se as microcápsulas (Gharsallaoui *et al.* 2007; Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

Na figura 6 encontra-se uma representação esquemática do *spray drying*, onde a solução previamente formulada é bombeada para o atomizador e a transformação imediata do líquido em pequenas partículas dá-se na câmara de secagem, após o contacto com o ar quente. A separação da humidade do material seco ocorre através do ciclone, situado no exterior da câmara e, por fim, as micropartículas são recolhidas no frasco coletor.



**Figura 6** – Esquema do *Spray drying* Lab-Plant SD 05, Huddersfield (adaptado de Souza *et al.* 2008)

De um modo mais pormenorizado, a atomização do líquido em pequenas partículas pode ser realizada por pressão ou por energia centrífuga, e tem como objetivo criar um máximo de transferência de calor entre o ar quente e o líquido. O líquido é atomizado na mesma direção do fluxo de ar quente (co-corrente), geralmente atinge valores entre os 150-220 °C, ocorrendo a evaporação instantânea. Os atomizadores utilizados para esta etapa incluem: atomizadores pneumáticos; injetor com pressão; disco giratório; injetor fluido e injetor sónico (Gharsallaoui *et al.* 2007; Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

Relativamente à evaporação, e de acordo com a teoria fundamental da secagem, podem ser distinguidos três passos sucessivos: (i) a transferência de calor provoca um aumento da temperatura das partículas até um valor constante, (ii) a evaporação da água é realizada a temperatura e pressão constantes e (iii) no momento em que a gotícula de água atinge um valor crítico forma-se uma crosta seca e a velocidade de secagem diminui rapidamente com a progressão da secagem. Teoricamente, a secagem termina quando a temperatura da partícula torna-se igual à temperatura do ar. A duração dos passos é diferente de acordo com a natureza do produto e a temperatura do ar de entrada. De facto, se a temperatura do ar de entrada for alta, forma-se rapidamente uma crosta seca porque a taxa de evaporação da água é alta. Geralmente, a secagem tem uma duração de 5-100 segundos, no entanto, se um sistema for bem projetado, bastam apenas 15-30 segundos. O curto espaço de tempo de exposição e a rápida evaporação da água fazem com que a temperatura do núcleo seja abaixo dos 40 °C, apesar do recurso a elevadas temperaturas durante todo o processo (Gharsallaoui *et al.* 2007; Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

Por fim, a separação da humidade do material seco dá-se por meio de um ciclone, e a sua presença reduz as perdas do produto para a atmosfera, sendo que as partículas mais densas depositam-se na base da câmara de secagem, enquanto as partículas mais finas passam através do ciclone, separadas da humidade do ar e depositam-se no frasco coletor. Dependendo da alimentação e das condições de secagem, o *spray drying* é capaz de produzir um pó muito fino (1-50 µm) ou partículas de maiores dimensões (2-3 mm) (Gharsallaoui *et al.* 2007; Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

O produto final (pó) depende diretamente dos parâmetros do *spray drying*, tais como a escolha e concentração do agente encapsulante, a velocidade da alimentação, a humidade e temperatura do ar de entrada e de saída, entre outros (Suzihaque, Hashib e Ibrahim, 2015).

A complexidade dos diferentes passos da secagem por *spray drying*, faz com que seja uma experiência de tentativa e erro e em escala piloto. O processo é matematicamente difícil de modelar, devido à quantidade de parâmetros que intervêm no processo (Gharsallaoui *et al.* 2007, Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

As condições ótimas do *spray drying* têm de ser estabelecidas de forma a obter microcápsulas de qualidade. Para tal, um dos principais fatores a ajustar no *spray drying* é a temperatura do ar de entrada que influencia diretamente a taxa de secagem das microcápsulas e o conteúdo final em água. Assim, se esta temperatura for muito baixa, a água não vai evaporar totalmente e o pó continua húmido, alterando consequentemente o rendimento da microencapsulação. Por outro lado, uma elevada temperatura do ar de entrada causa uma evaporação excessiva, resultando no risco de ocorrência de fissuras da membrana e à consequente degradação e libertação não controlada do material encapsulado. Este aumento da temperatura resulta ainda na produção de partículas de maiores dimensões, uma vez que durante o processo de secagem forma-se um filme na superfície da partícula e a concentração do material encapsulado aumenta. (Gharsallaoui *et al.* 2007, Ray, Raychaudhuri e Chakraborty, 2016).

Além disso, a morfologia e o tamanho das partículas dependem da velocidade da alimentação, da viscosidade e da tensão superficial do líquido da alimentação, pois o aumento destes parâmetros promove um aumento da dimensão das partículas (Gharsallaoui *et al.* 2007).

Deste modo, uma forma simples, eficaz e barata de preservar o valor nutritivo dos compostos bioativos é através da microencapsulação por *spray drying*. Esta técnica expõe os compostos a altas temperaturas durante poucos segundos, sendo uma vantagem na indústria alimentar, pois existem inúmeros compostos sensíveis à temperatura, tais como as vitaminas, que podem sofrer alterações indesejáveis quando sujeitas a altas temperaturas (Microencapsulação, 2013).

## Capítulo 3 - Desenvolvimento Experimental

---

### 3.1. Otimização da extração de compostos hidrossolúveis dos subprodutos do ananás

#### 3.1.1. Subproduto

O subproduto utilizado consistiu de corações e cascas de ananás, resultante do processamento mínimo na unidade industrial CAMPOTEC, de forma independente.

O subproduto foi transportado em condições refrigeradas para o laboratório, tendo sido embalado a vácuo e imediatamente colocado no congelador a uma temperatura de -18 °C para posterior caracterização.

A determinação da humidade foi realizada por secagem numa estufa (Binder) a 115 °C até massa constante (método AOAC 920.151).

#### 3.1.2. Delineamento experimental

Numa primeira fase foi realizado um delineamento experimental central composto rotativo com duas variáveis independentes (tempo e massa de solvente), utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM), com o objetivo de otimizar as condições de extração dos compostos bioativos hidrossolúveis da casca e coração do ananás.

O delineamento experimental consistiu em 12 pontos para cada um dos componentes do ananás (coração e casca) cuja sequência está indicada na tabela 5.

Selecionaram-se como variáveis independentes: o tempo de extração ( $x_1$ : 5-45 minutos) e a massa de solvente ( $x_2$ : 100-500 g); e as respostas: fenóis totais, sólidos solúveis totais e cor.

A massa de ananás (matéria prima) utilizada para todos os ensaios foi de 100 g.



**Tabela 5** - Matriz codificada e decodificação para as variáveis estudadas.

Ensaio	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Tempo (min)	M <sub>solvente</sub> (g)
1	-1	-1	11	160
2	-1	1	11	440
3	1	-1	39	160
4	1	1	39	440
5(C)	0	0	25	300
6(C)	0	0	25	300
7	- $\alpha$	0	5	300
8	$\alpha$	0	45	300
9	0	- $\alpha$	25	100
10	0	$\alpha$	25	500
11(C)	0	0	25	300
12(C)	0	0	25	300

### 3.1.3. Processo de Extração

Para a obtenção dos compostos bioativos do coração e da casca do ananás, realizou-se uma extração simples sólido-líquido, utilizando a água como solvente.

As amostras foram descongeladas, trituradas, tendo sido a extração realizada à temperatura ambiente nas condições descritas na tabela 5. De seguida, procedeu-se à filtração sob vácuo (filtro Whatman, 40, 125 mm Ø) e o permeado foi centrifugado a 7000 rpm, durante 10 minutos, a 15 °C (HERMLE Labortechnik Z 383 K). Por fim, o sobrenadante foi recolhido para posterior caracterização.

### 3.1.4. Caracterização Físico-química

Nesta fase, realizaram-se diferentes análises físico-químicas (fenóis totais, sólidos solúveis totais e cor) ao sobrenadante recolhido no ponto 3.1.3. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

#### Fenóis Totais

Os fenóis totais foram determinados através da leitura direta no espectrofotômetro (UNICAM, UV/Vis Spectrometer – UV4) com absorvância de 280 nm (Ribereau-Gayon *et al.*, 2000). A reta de calibração (anexo I) foi traçada com ácido gálico (0, 5, 10, 15, 25, 35 mg / L) em água destilada e os resultados finais foram expressos em mg EAG / g extrato seco.

#### Sólidos Solúveis Totais

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados através do refratômetro (Atago PAL-1, Tokyo, Japan) de acordo com o método AOAC 932.12. Colocaram-se gotas do sobrenadante sobre o prisma do refratômetro e a quantidade de SST é dada diretamente através da leitura do equipamento, expressa em graus Brix.

#### Cor

A cor foi determinada através de um método adaptado de Bartolomé, Rupérez e Fúster (1995), para tal encheram-se cadinhos de alumínio com o sobrenadante, procedendo-se à leitura direta da cor pelo colorímetro (Chroma Meter CR-400, Japan) com os valores de referência  $L^*=94,61$ ;  $a^*=-0,53$ ;  $b^*=3,62$ . Os resultados são lidos a nível de  $L^*$  (luminosidade),  $C^*$  (pureza ou intensidade da luz) e  $h^\circ$  (tonalidade).

### 3.1.5. Análise estatística dos resultados

Nos estudos de otimização (RSM) para cada variável resposta (Y) em estudo os resultados foram analisados utilizando o modelo empírico de regressão polinomial quadrático (Eq 1.):

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_{11}X_1^2 + b_2X_2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 \quad (\text{Eq.1})$$

em que Y corresponde à variável dependente;  $X_1$  e  $X_2$  às variáveis independentes 1 e 2;  $b_n$  os coeficientes de regressão.

### 3.2. Caracterização do extrato obtido nas condições otimizadas

Depois de estabelecidas as condições ótimas, procedeu-se à extração (idêntico ao descrito em 3.1.3). Para tal, preparou-se 1 L de amostra para cada um dos componentes (coração e casca) com uma razão matéria prima-solvente na ordem 1:6 e o tempo de extração 25 minutos. De seguida, foram introduzidos 5 mL de amostra de cada componente no concentrador (GYROZEN, Daeleon) durante 8 horas. Por fim, as amostras foram armazenadas no frio para posterior determinação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante.

#### 3.2.1. Determinação dos compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais realizou-se de acordo com o método de Folin-Ciocalteu, tendo sido adaptado uma versão deste método descrito pela UFRGS.

Este ensaio determina a quantidade de compostos fenólicos presentes na amostra através da redução de um complexo de molibdénio-tungstato-fósforo, em meio básico, dando origem a um complexo reduzido de coloração azul. A monitorização da reação é feita por espectrofotometria com uma absorvância máxima ao comprimento de onda de 765 nm. Desta forma, quanto maior for a quantidade de compostos fenólicos presentes na amostra, maior será a absorvância a este comprimento de onda (Huang, Ou e Prior, 2005; Prior, Wu e Schaich, 2005).

Para a determinação dos compostos fenólicos totais, foram colocados em cada tubo de ensaio 20 µL de cada amostra e adicionou-se 1,68 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich) misturado com água na seguinte proporção: 100 µL de Folin-Ciocalteu e 1,58 mL de água destilada. Após 8 minutos de reação foram adicionados 300 µL de tampão carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Sigma Aldrich) aos tubos, sendo posteriormente agitados no vortex (IKA® Genius 3) e guardados no escuro por 2 horas para se proceder à leitura no espectrofotómetro (UNICAM, UV/Vis Spectrometer – UV4) a 765 nm. Em adição, preparou-se uma solução de referência com os mesmos reagentes, substituindo apenas os 20 µL da amostra por uma solução a 10% de etanol. Todos os ensaios foram elaborados em triplicado.

Na construção da reta de calibração (anexo II) seguiu-se o mesmo procedimento, no entanto, os 20 µL de amostra foram substituídos por diferentes concentrações de ácido gálico (20, 100, 200, 300, 400 µg / mL). Desta forma, os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

### 3.2.2. Determinação da atividade antioxidante

#### DPPH

O método DPPH baseia-se na redução do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil na presença de um antioxidante doador de hidrogénio, incluindo compostos fenólicos. Este radical tem uma banda de absorção entre 515-520 nm, que desaparece após a redução por um composto antioxidante (Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995). Assim, o consumo de radicais livres é diretamente proporcional à capacidade antioxidante da amostra. O DPPH em solução metanólica apresenta uma forte coloração roxa que se converte numa solução amarelada após a reação do radical com o antioxidante, o que permite determinar a atividade antioxidante por espectrofotometria (Carmona-Jiménez *et al.*, 2014).

Para a determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH seguiu-se o método descrito por Rufino *et al* (2007), com algumas modificações.

Inicialmente preparou-se a solução stock, dissolvendo 24 mg de DPPH (Sigma Aldrich) num frasco volumétrico de 100 mL em metanol (Sigma Aldrich). A solução foi homogeneizada no vortex (IKA® Genius 3) e armazenada no congelador durante 2 horas antes da sua utilização.

Após este período, preparou-se a solução de trabalho, diluindo 10 mL da solução stock em 45 mL de metanol e procedeu-se à leitura no espectrofotómetro (UNICAM, UV/Vis Spectrometer – UV4) a 515 nm, de modo a obter uma absorvância inferior a 1.1. Caso não se verifique, é necessário diluir a solução até obter o valor pretendido.

Para determinar a atividade antioxidante, a 3,9 mL da solução de trabalho adicionou-se 0,1 mL de cada amostra nos tubos de ensaio. Em paralelo, preparou-se uma solução de referência com 0,1 mL de metanol e 3,9 mL da solução de trabalho. De seguida, todos os tubos foram agitados e após um período de 40 minutos no escuro, procedeu-se à leitura da absorvância no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 515 nm. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

Os resultados foram expressos em termos de RSA (*Radical Scavenging Activity*), através da seguinte equação:

$$RSA (\%) = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100 \quad (\text{Eq.2})$$

onde,  $A_o$  é a absorvância da solução de referência e  $A_s$  corresponde à absorvância da amostra.

Para a construção da reta de calibração (anexo III), utilizou-se Trolox (Sigma Aldrich) como padrão com as seguintes concentrações: 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000  $\mu\text{M}$  que foram colocadas a reagir com o radical DPPH nas mesmas condições que as amostras, de modo a converter os valores de RSA para Trolox (M).

Os resultados finais da atividade antioxidante foram expressos em TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), definida como a capacidade antioxidante da amostra, relativamente a uma base micromole de Trolox.

### FRAP

O método de FRAP baseia-se na redução, em meio ácido, de um complexo férrico de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) para um complexo ferroso de TPTZ de intensa coloração azul escura. Assim, quanto maior for a capacidade antioxidante de uma amostra, maior será a produção do complexo  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ, podendo ser monitorizado através da leitura da absorvância a um comprimento de onda de 595 nm (Huang, Ou e Prior, 2005; Prior, Wu e Schaich, 2005).

O ensaio do poder antioxidante de redução de ferro (FRAP) foi realizado de acordo com Rufino *et al* (2007), com algumas modificações.

Em primeiro lugar, foram preparadas três soluções stock:

- Tampão acetato 0,3M – dissolução de 1,6 g de acetato de sódio,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (Sigma Aldrich), em 16 mL de acetona e completar o volume de 500 mL com água destilada. Homogeneização e armazenamento num frasco de vidro âmbar a temperatura ambiente;
- Solução de cloreto férrico 0,02 M – dissolução de 2,7 g de  $\text{FeCl}_3$  (Sigma Aldrich) em água destilada e completar o volume de um balão volumétrico de 500 mL. Homogeneização e armazenamento num frasco de vidro âmbar a temperatura de refrigeração-
- Solução de TPTZ 0,01 M – Dissolução de 1,56 g de TPTZ (Sigma Aldrich) em HCl 0,04 M (Sigma Aldrich) e completar o volume de 500 mL Homogeneização e armazenamento num frasco de vidro âmbar a temperatura de refrigeração.

Posteriormente, foi preparada a solução de trabalho FRAP a partir da mistura das soluções stock: 100 mL tampão acetato, 10 mL da solução de cloreto férrico e 10 mL da solução de TPTZ.

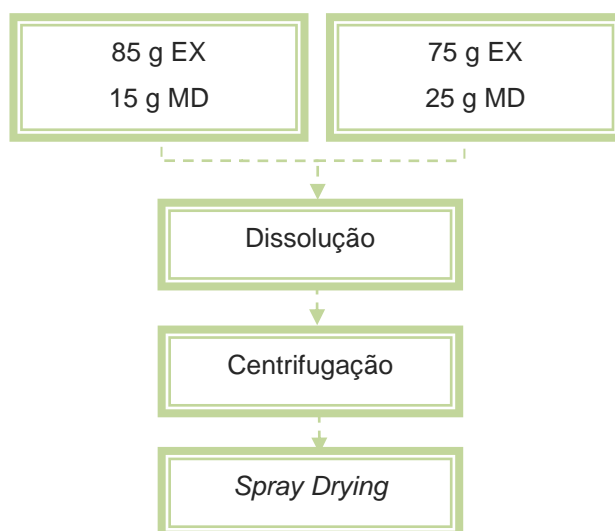
Para determinar a capacidade antioxidante, a 2,7 mL da solução FRAP foram adicionados 90 µL de amostra e 270 µL de água destilada em tubos de ensaio. A solução de referência foi preparada com os mesmos reagentes, com exceção dos 90 µL de amostra que foram substituídos por água destilada. De seguida, todos os tubos foram homogeneizados no vortex (IKA® Genius 3) e colocados em banho-maria a 37 °C durante 30 minutos. Após este período, foi feita a leitura da absorvância no espectrofotômetro (UNICAM, UV/Vis Spectrometer – UV4) a um comprimento de onda de 595 nm. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

Na construção da reta de calibração (anexo IV) foram seguidas as mesmas condições que as amostras, utilizando Trolox (Sigma Aldrich) como padrão com diferentes concentrações (100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000 µM)

Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*).

### 3.3. Encapsulação do extrato por *spray-drying*

Após a caracterização dos extratos otimizados, foram preparadas amostras com concentrações de 15% e 25% de maltodextrina (Sigma Aldrich) – agente encapsulante (Jittanit *et al.* 2010). Para tal, dissolveram-se para cada amostra, 85 g e 75 g de massa de extrato otimizado (3.2.), respetivamente. A dissolução das amostras realizou-se sob agitação a 8000 rpm, durante 15 minutos, seguida de centrifugação (7000 rpm, 10 minutos, 15 °C). Por fim, o sobrenadante foi recolhido e armazenado em frascos de vidro âmbar para posterior secagem por *spray drying* (figura 7).



**Figura 7** – Diagrama da produção de partículas por *spray drying*.

#### 3.3.1. Parâmetros do processo

Foi aplicado um desenho fatorial com duas variáveis independentes de 4 níveis: concentração em maltodextrina (15 % e 25 %) e a temperatura do ar de entrada (130 °C e 150 °C), para as amostras de cada componente. Os valores das variáveis foram selecionadas de acordo com Jittanit *et al.* (2010).

Cada uma das combinações dá origem a uma condição experimental no *spray drying*. Na tabela 6,  $x_1$  representa a concentração de maltodextrina e  $x_2$  a temperatura.

**Tabela 6** – Desenho factorial das variáveis independentes

Amostra	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	MD (%)	T (°C)
A1	-1	-1	25	150
A2	-1	1	25	130
A3	1	1	15	130
A4	1	-1	15	150

### 3.3.2. Processo do *spray-drying*

Um volume de 80 mL de cada amostra foi submetido ao processo de secagem por *spray drying* (LabPlant SD-05), de acordo com os parâmetros descritos na tabela 6. Durante o processo, a taxa de fluxo de entrada da alimentação estava fixa a 3,7 mL / min e a pressão do ar a 1,6 bar. Após a secagem, o pó recolhido na parte inferior do ciclone foi armazenado em frascos devidamente selados com parafilme, protegidos da luz e humidade.

O rendimento do processo foi calculado pela seguinte fórmula (Su *et al.*, 2008):

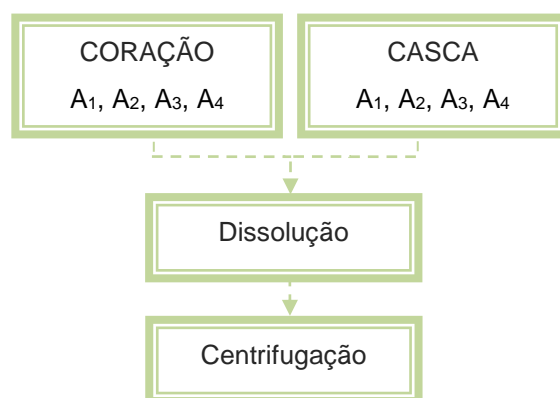
$$\text{Spray Drying Yield (\%)} = M_f / M_i \times 100$$

onde  $M_f$  é a massa de pó recolhida no final da secagem e  $M_i$  é a massa adicionada na fonte de alimentação.



### 3.4. Caracterização das partículas obtidas por *spray drying*

Após a recolha das partículas produzidas por *spray drying*, seguiu-se a caracterização das mesmas, dissolvendo 200 mg de partículas de cada amostra em 10 mL de água destilada sob agitação a 8000 rpm, durante 15 minutos. De seguida, as amostras foram centrifugadas (7000 rpm, 10 minutos, 15 °C) e o sobrenadante recolhido foi armazenado em frascos de vidro âmbar para posterior caracterização (figura 8).



**Figura 8** – Diagrama da caracterização das partículas.

#### 3.4.1. Morfologia e tamanho das partículas

O estudo da morfologia e tamanho das partículas encapsuladas foi realizado por imagens SEM (*Scanning Electron Microscopy*) no MicroLab do Instituto Superior Técnico. As imagens foram obtidas através do equipamento Hitachi S2400 (Alemanha), a 15 kV com ampliações a 500x, 1000x e 2000x. As amostras recolhidas foram cobertas com uma camada de material condutor de ouro (80%) e paládio (20%) antes de serem colocadas no suporte para análise.

#### 3.4.2. Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação (EE) dos compostos bioativos

De modo a ser possível calcular a concentração de compostos bioativos presentes nas partículas, mediu-se a absorvância do sobrenadante recolhido de cada amostra no espectrofotómetro (UNICAM, UV/Vis Spectrometer – UV4) a 280 nm.

A reta de calibração (anexo I) foi traçada com ácido gálico (0, 5, 10, 15, 25, 35 mg / L) em água destilada e os resultados foram expressos em mg ácido gálico / mg partículas.

Depois de conhecer o carregamento das partículas, a eficiência de encapsulação é a razão entre a massa total de compostos bioativos presentes nas partículas e a massa dos compostos bioativos iniciais na fonte de alimentação (Rocha, Fávaro-Trindade e Grosso, 2012).

#### **3.4.3. Determinação da atividade antioxidante após encapsulação**

Para determinar a atividade antioxidante dos compostos bioativos microencapsulados, seguiu-se o procedimento idêntico ao descrito em 3.2.3.

## Capítulo 4 – Resultados e Discussão

---

### 4.1. Otimização das condições de extração e caracterização do extrato

#### 4.1.1. Subproduto

Para as amostras de coração e casca do ananás, os valores médios dos teores de humidade obtidos foram de 83,4 % e 86,3 %, respetivamente (tabela 7). A água é o componente maioritário das frutas e representa cerca de 80-90% do fruto. De acordo com Sousa *et al.* (2011), os resíduos da polpa de ananás apresentam uma humidade de 88 %, valor muito próximo aos encontrados nos resíduos do ananás.

**Tabela 7** – Composição da humidade dos subprodutos do ananás.

	<b>M<sub>inicial</sub> (g)</b>	<b>M<sub>final</sub> (g)</b>	<b>Humidade (%)</b>
<b>Coração</b>	21,6	3,6	<b>83,4</b>
<b>Casca</b>	19,4	2,7	<b>86,3</b>

#### 4.1.2. Delineamento experimental

Para a otimização do extrato foi aplicado a metodologia de superfície de resposta (RSM), considerando duas variáveis independentes: tempo (*t*, minutos) e massa de solvente (*M*, g) e três variáveis dependentes: fenóis totais (EAG), sólidos solúveis totais (SST) e a cor (*L*, *C*\*, *h*\*). Nos anexos V e VI apresentam-se os resultados das respostas obtidas experimentalmente para os 12 ensaios, de acordo com o delineamento central composto rotativo, referentes ao coração e casca do ananás, respetivamente.

Os resultados ANOVA encontram-se na tabela 8.

**Tabela 8** – Resultados ANOVA para otimização do extrato do coração e casca do ananás.

Respostas	Equação	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> aj.
<b>EAG</b>			
Coração	$2,381^* + 0,027t - 0,370t^2 + 0,786M^* - 0,281M^2 - 0,026 tM$	0,942	0,894
Casca	$3,134^* + 0,564t^* - 0,145t^2 + 1,802M^* - 0,109M^2 - 0,396 tM$	0,970	0,945
<b>SST</b>			
Coração	$2,223^* + 0,011t - 0,460t^2 - 1,701M^* + 0,961M^2 - 0,150 tM$	0,920	0,853
Casca	$1,900^* + 0,1381t + 0,151t^2 - 1,538M^* + 0,691M^2 + 0,150 tM$	0,969	0,944

*t* = Tempo de extração (min.), *M* = Massa de solvente (g), EAG = Equivalente em Ácido Gálico, SST = Sólidos Solúveis Totais.

Nível de significância \* *p* < 0,05.

Analisando os resultados da tabela, os modelos de segunda ordem apresentam elevada significância (*p* < 0,05) e encontram-se bem ajustados com as respostas para as duas variáveis independentes estudadas, EAG e SST, uma vez que os coeficientes de determinação (*R*<sup>2</sup>) são muito próximos de 1. Os resultados da cor não são significativos (*p* > 0,05) pelo que não foram apresentados os respectivos modelos.

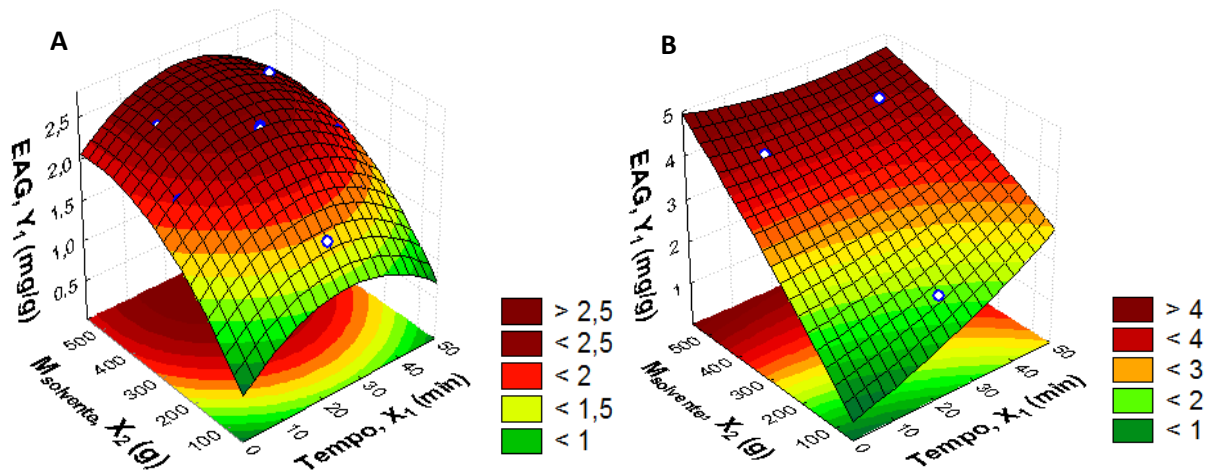
No caso do coração de ananás, o teor de fenóis (EAG) foi mais influenciado pela massa de solvente (efeito linear positivo e quadrático negativo) do que pelo tempo de extração. No caso da casca, as variáveis tempo e massa de solvente exercem efeito positivo linear sob o EAG.

O teor de sólidos solúveis totais (SST) do coração e casca de ananás é influenciado pela massa de solvente (efeito linear negativo e quadrático positivo). No entanto, o tempo não influenciou a quantidade de SST dos subprodutos

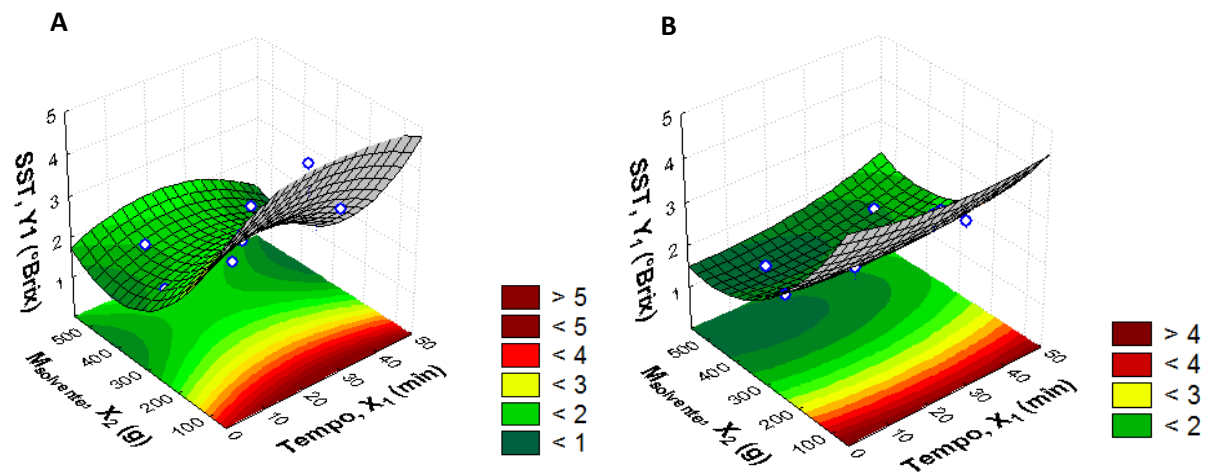
Na figura 9-A pode constatar-se um valor máximo de EAG para valores de massa de solvente de 500 g e um tempo de extração de 25 minutos. A figura 9-B indica que o teor de EAG é favorecido com o aumento da massa de solvente e tempos de extração intermédios.

A superfície de resposta da figura 10 sugere uma diminuição de SST com um aumento da massa de solvente.

É de notar que os modelos representativos da cor não são apresentados neste trabalho, pois observou-se uma forte homogeneidade de valores entre as diferentes condições dos ensaios.



**Figura 9** - Superfície de resposta do teor de compostos fenólicos ( $Y_1$ ) em função do tempo ( $X_1$ ) e da massa de solvente ( $X_2$ ). (A) Coração; (B) Casca.

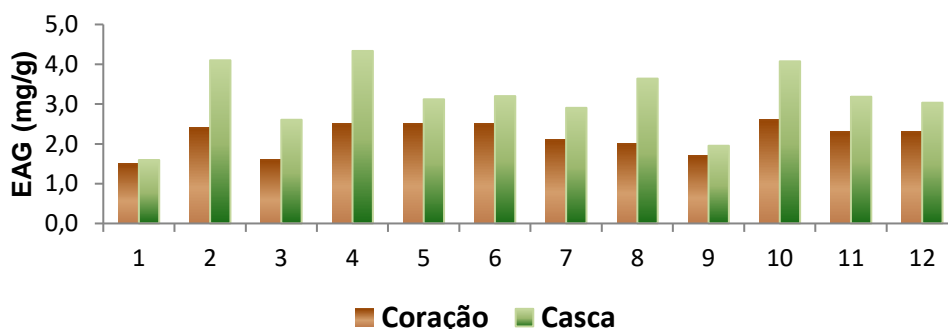


**Figura 10** - Superfície de resposta do teor de sólidos solúveis totais ( $Y_2$ ) em função do tempo ( $X_1$ ) e da massa de solvente ( $X_2$ ). (A) Coração; (B) Casca.

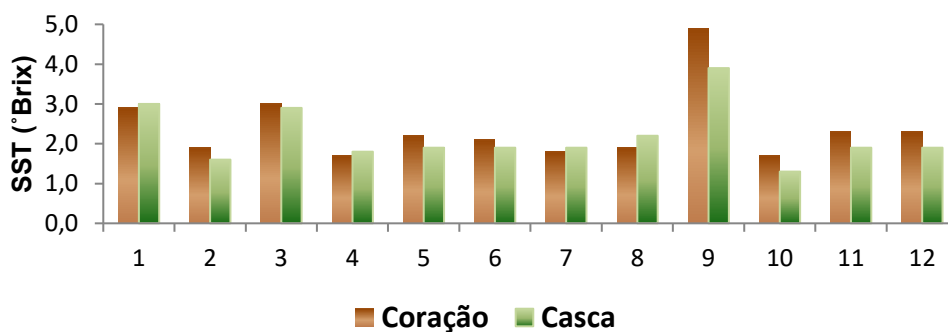
Com base na superfície de resposta do teor de compostos fenólicos totais foram selecionadas as condições ótimas de extração para uma razão matéria-prima – solvente na ordem de 1:6 e um tempo de extração de 25 minutos, de modo a maximizar o grau de extração destes compostos. Segundo Belwal *et al.*, (2016) tempos de extração prolongados poderiam comprometer a decomposição dos compostos fenólicos devido a fenômenos de oxidação.

De seguida, procedeu-se a uma comparação dos valores das variáveis EAG e SST de todos os ensaios entre as diferentes componentes (coração e casca) e os resultados encontram-se nas figuras 11 e 12, respectivamente.

Relativamente à variável EAG, verificou-se que a casca apresenta um teor de compostos fenólicos superior ao coração. Em relação à variável SST, ambas as componentes apresentam teores bastante semelhantes entre eles.



**Figura 11** – Fenóis Totais dos subprodutos.



**Figura 12** – Sólidos Solúveis Totais dos subprodutos.

## 4.2. Produção de partículas através de *spray drying*

O rendimento do processo de *spray drying* para todas as amostras encontra-se na tabela 9. Os valores obtidos para o rendimento do processo estão compreendidos entre 11 % e 28,3%.

**Tabela 9** – Rendimento de secagem por *spray drying* dos extratos de coração e casca de ananás com maltodextrina.

Amostra	MD (%)	T (°C)	Rendimento (%)
<b>CORAÇÃO</b>			
A1	25	150	28,3
A2	25	130	18,4
A3	15	130	19,0
A4	15	150	21,2
<b>CASCA</b>			
A1	25	150	21,6
A2	25	130	11,0
A3	15	130	20,2
A4	15	150	21,8

Os valores de rendimento mais baixos correspondem às amostras secas a temperaturas mais baixas (130 °C). O rendimento mais alto foi de 28,3 % (A<sub>1</sub> coração), que corresponde à amostra com maior concentração de maltodextrina (MD) e maior temperatura de secagem.

O rendimento das amostras submetidas a 150°C é maior quando comparadas com as amostras submetidas a 130 °C, possivelmente devido a uma maior eficiência dos processos de transferência de calor e evaporação da água quando foram aplicadas temperaturas elevadas do ar de entrada. Por outro lado, valores mais baixos do rendimento podem estar relacionados com um excesso das perdas que se verificaram no ciclone, pois as partículas tendem a colar umas às outras e formar depósitos de camadas espessas na parede do



ciclone, enquanto o pó recolhido à saída do processo é muito pouco (Suzihaque, Hashib e Ibrahim, 2015).

Tal como era previsto, a variação de valores do rendimento do processo de *spray drying* está diretamente relacionada com as diferentes temperaturas do ar de entrada e concentrações do agente encapsulante.

A análise conjunta dos resultados permite afirmar que elevadas temperaturas do ar de entrada conduzem a rendimentos mais altos, independentemente da variação da concentração de maltodextrina.

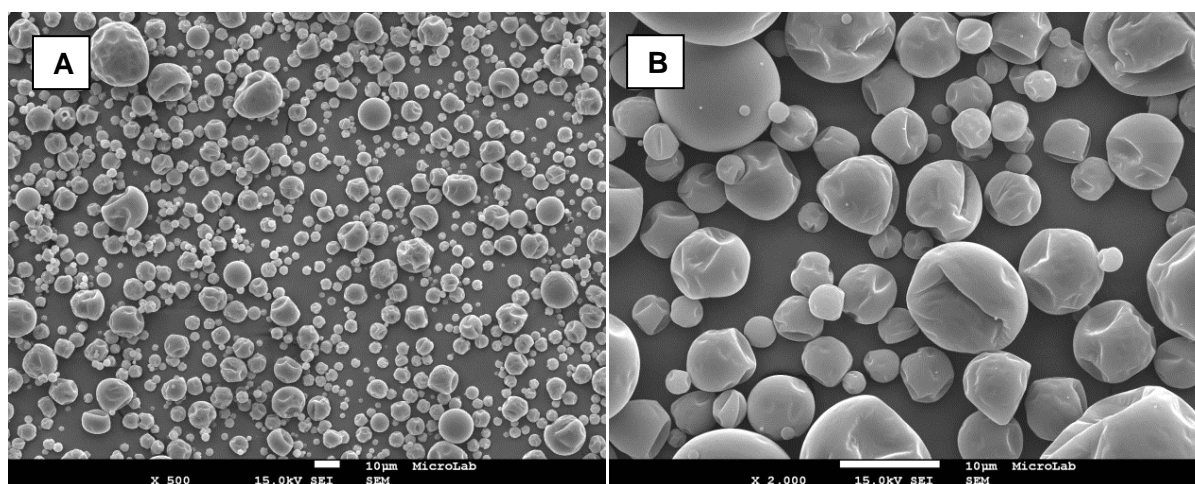
No geral, o rendimento do processo de *spray drying* obtido neste estudo está de acordo com o referido por Wong *et al.* (2015), que avaliou as condições ótimas de secagem por *spray drying* do ananás *Sarawak*, utilizando diferentes temperaturas do ar de entrada e concentrações de maltodextrina, tendo obtido valores de rendimento na ordem dos 25 %.

### 4.3. Caracterização das partículas obtidas por *spray drying*

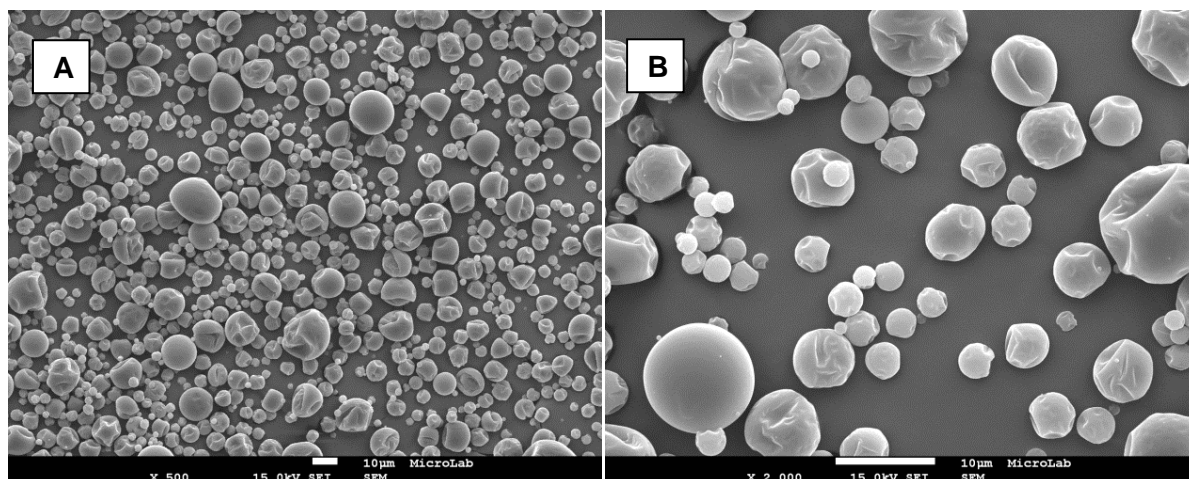
#### 4.3.1. Morfologia e tamanho das partículas

A morfologia e a distribuição do tamanho das partículas, obtidas por *spray drying*, foram estudadas recorrendo a microscopia eletrônica de varrimento. Para tal, foram selecionados aleatoriamente campos das imagens SEM e a medição do diâmetro das partículas foi realizada por amostragens.

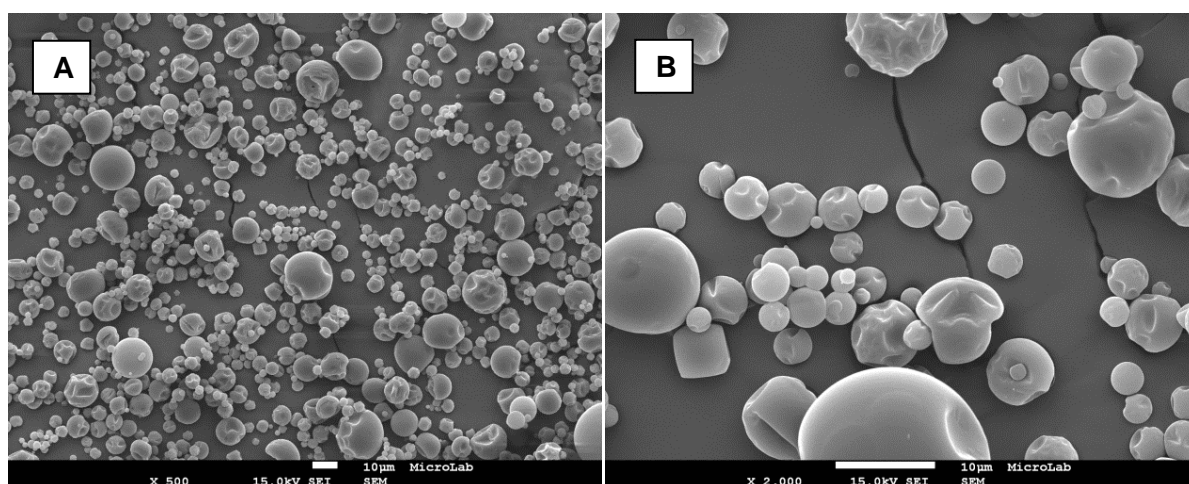
As figuras 13 a 17 e 18 a 21 ilustram as imagens SEM das partículas produzidas com extrato de coração e casca, respetivamente, com diferentes ampliações, de acordo com o desenho fatorial ( $A_1 - A_4$ ).



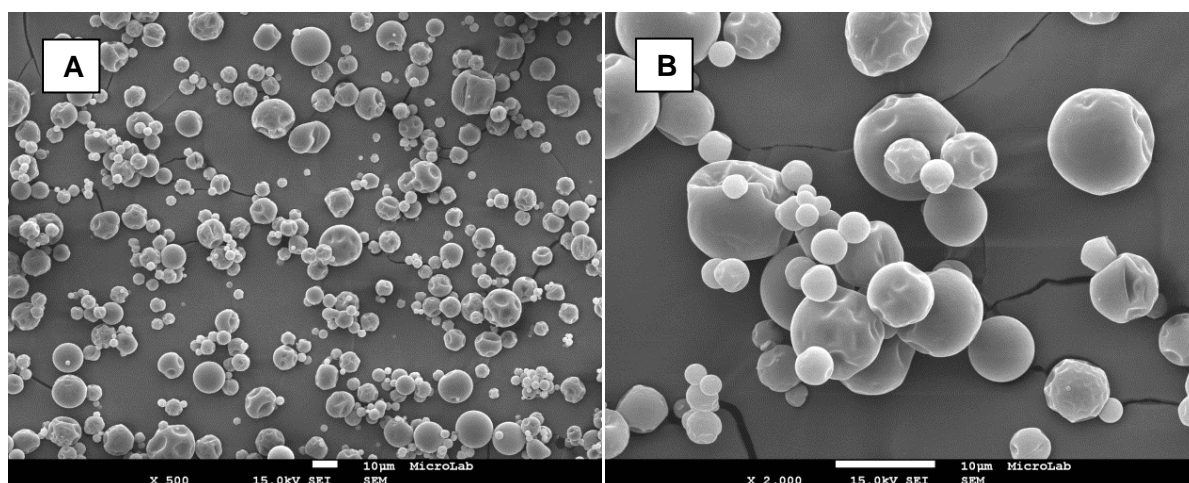
**Figura 13** – Imagens SEM das partículas com extrato de coração  $A_1$  (25 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



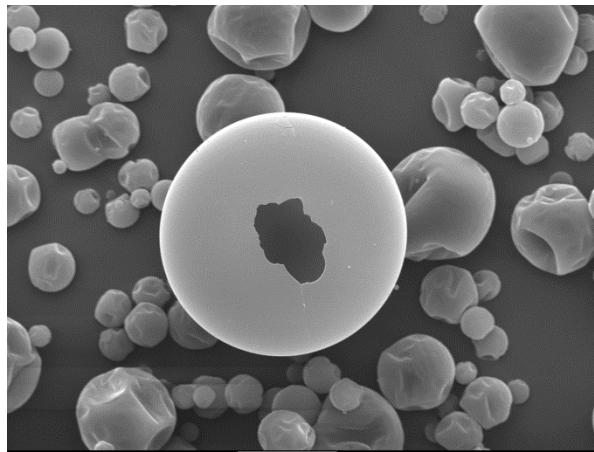
**Figura 14** – Imagens SEM das partículas com extrato de coração A<sub>2</sub> (25 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



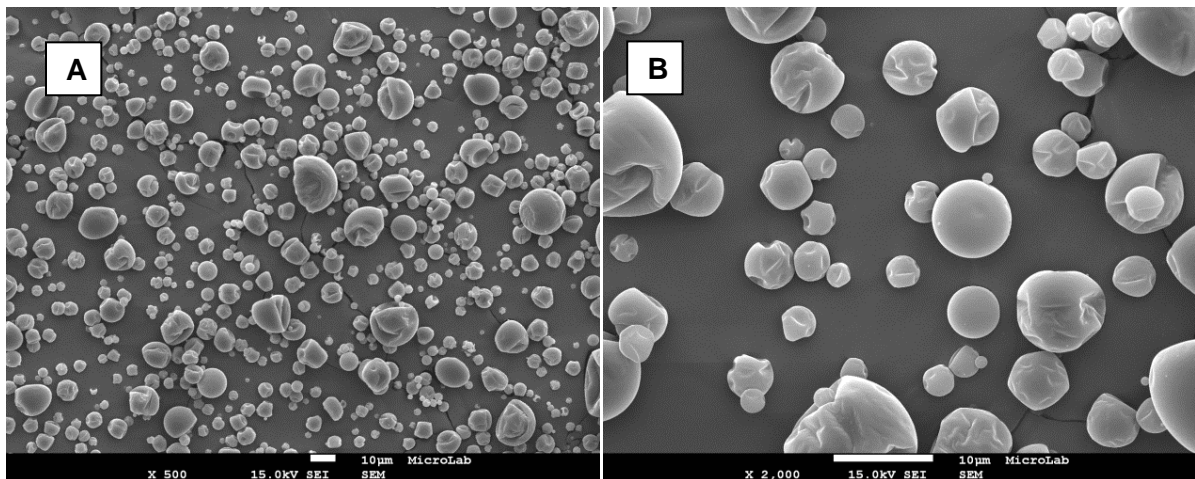
**Figura 15** - Imagens SEM das partículas com extrato de coração A<sub>3</sub> (15 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



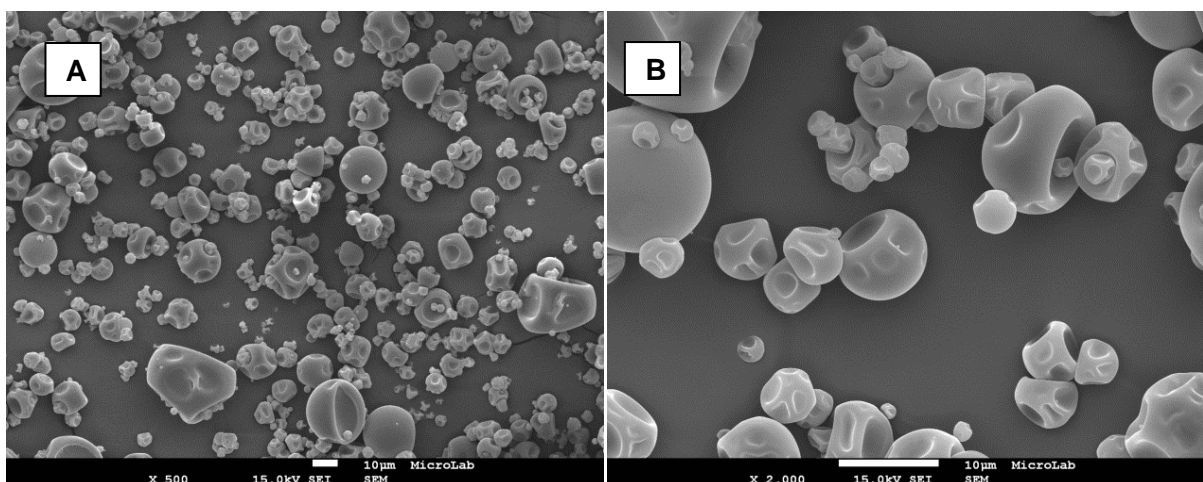
**Figura 16** - Imagens SEM das partículas com extrato de coração A<sub>4</sub> (15 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



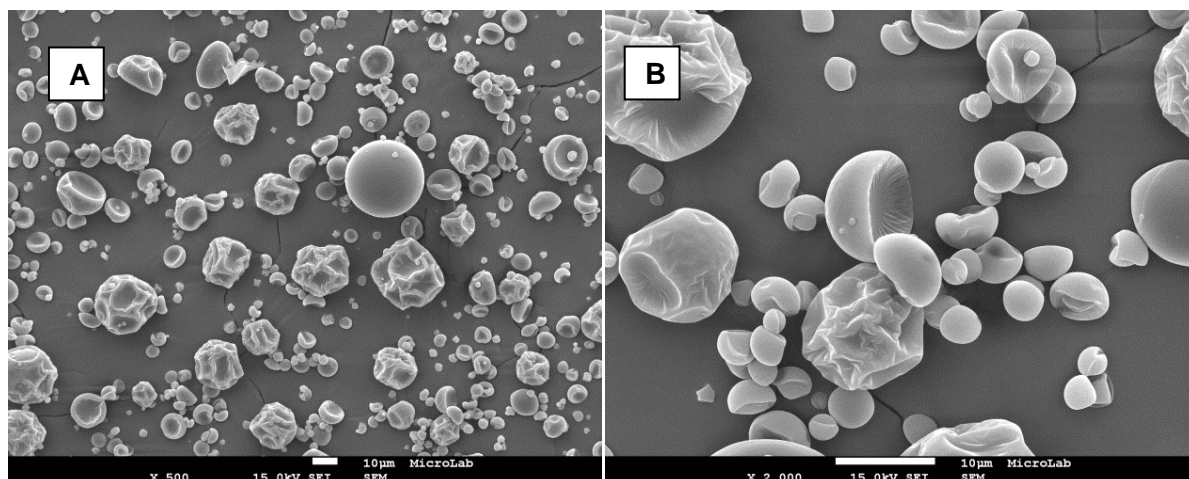
**Figura 17** – Imagem SEM das partículas com extrato de coração A<sub>1</sub> (25 %, 150 °C) x 2000.



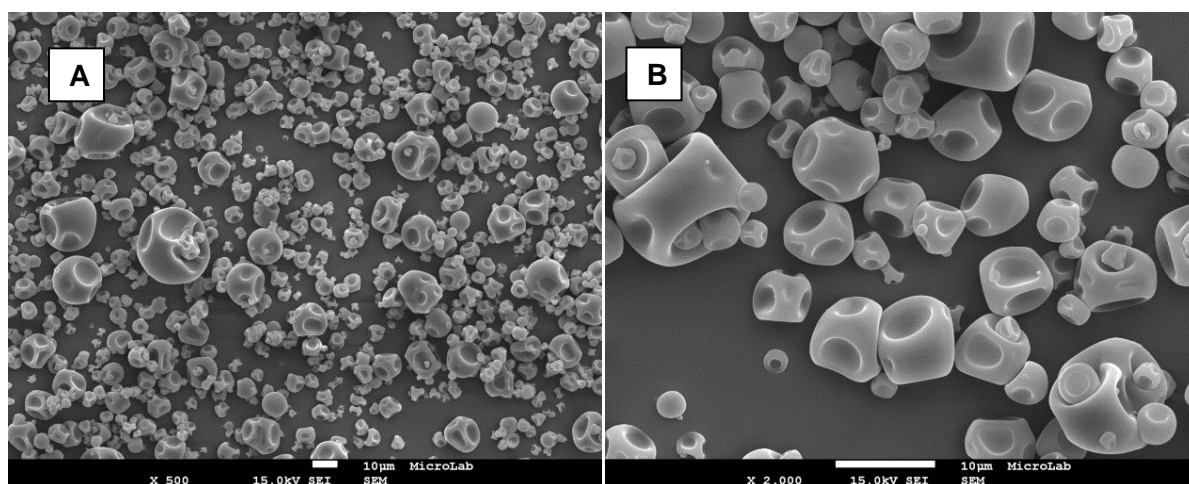
**Figura 18** - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A<sub>1</sub> (25 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



**Figura 19** - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A<sub>2</sub> (25 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



**Figura 20** - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A<sub>3</sub> (15 % MD, 130 °C). (A) x 500 (B) x 2000.



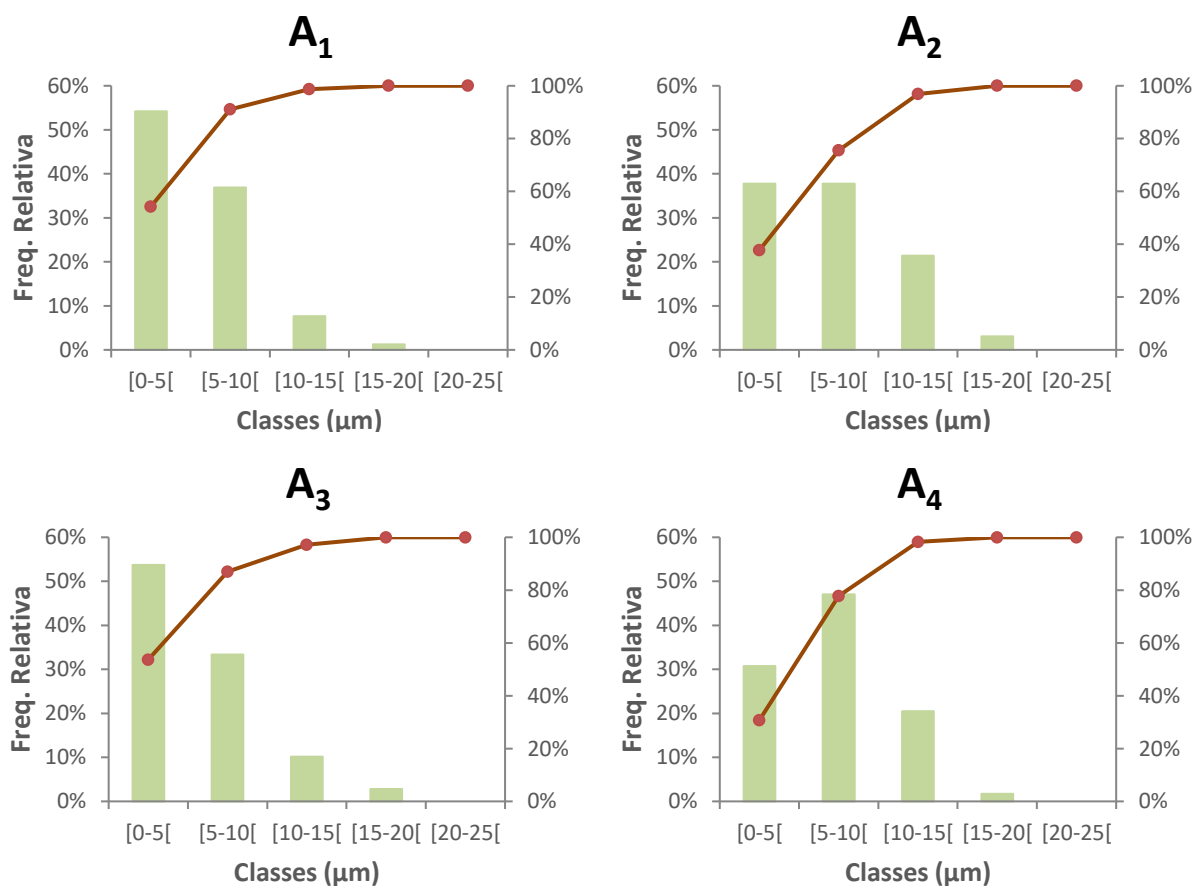
**Figura 21** - Imagens SEM das partículas com extrato de casca A<sub>4</sub> (15 % MD, 150 °C). (A) x 500 (B) x 2000.

Pela análise das imagens SEM das partículas com extrato de coração, verifica-se que o processo de *spray drying* promoveu, no geral, a formação de cápsulas esféricas com uma superfície lisa. Além disso, é possível observar que apesar das diferentes condições de secagem aplicadas (temperatura do ar de entrada e concentração de maltodextrina), as partículas apresentam uma morfologia bastante semelhante.

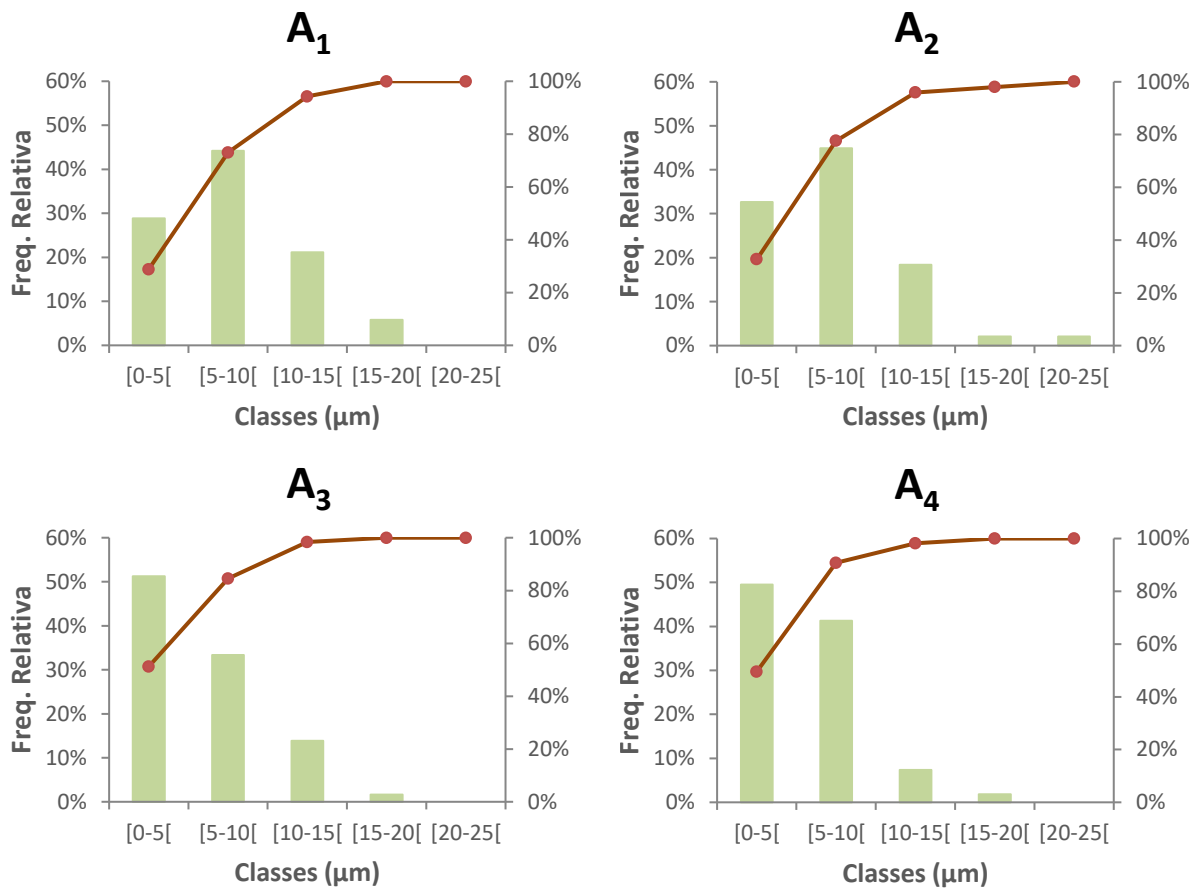
Na figura 17 verificou-se a rutura da partícula, contudo não é possível especificar a sua espessura devido à posição em que se encontra.

Nas restantes imagens não foram observadas ruturas, no entanto, existem partículas de superfície rugosa e côncavas, nomeadamente na figura 21.

A distribuição do tamanho das partículas com extratos das diferentes amostras de coração e casca encontra-se nas figuras 22 e 23, respectivamente.



**Figura 22** - Histogramas da distribuição dos diâmetros das partículas com extratos de coração produzidas a diferentes condições. A<sub>1</sub>: 25 %, 150 °C; A<sub>2</sub>: 25 %, 130 °C; A<sub>3</sub>: 15 %, 130 °C; A<sub>4</sub>: 15 %, 150 °C.



**Figura 23** - Histogramas da distribuição dos diâmetros das partículas com extratos de casca produzidas a diferentes condições. A<sub>1</sub>: 25 %, 150 °C; A<sub>2</sub>: 25 %, 130 °C; A<sub>3</sub>: 15 %, 130 °C; A<sub>4</sub>: 15 %, 150 °C.

De acordo com Gharsallaoui *et al.* (2007), o tamanho típico das micropartículas produzidas por *spray drying* varia entre 1-100  $\mu\text{m}$ . Neste estudo observa-se uma distribuição ampla do tamanho das partículas, que varia de 0,9  $\mu\text{m}$  a 22,7  $\mu\text{m}$ , aproximadamente, sem grandes diferenças aparentes entre as diferentes condições aplicadas, sendo que cerca de 80 % das partículas apresenta uma dimensão inferior a 10  $\mu\text{m}$ .

Suzihaque *et al.* (2015) estudou o efeito da temperatura do ar de entrada no tamanho das partículas de pó de ananás e concluiu que a uma temperatura de 150 °C formam-se partículas de maiores dimensões, por outro lado, a temperaturas mais baixas as partículas produzidas são menores. No entanto, este facto não se verifica neste estudo, uma vez que o aumento da temperatura não proporcionou o aumento do tamanho médio das partículas e vice-versa (tabela 10).

**Tabela 10** - Tamanho médio, em  $\mu\text{m}$ , das partículas produzidas.

Temperatura (°C)	Concentração MD (%)	Tamanho médio ( $\mu\text{m}$ )	
		Coração	Casca
130	15	4,9	5,1
	25	5,8	6,1
150	15	6,2	4,8
	25	4,3	6,8



#### 4.3.2. Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação (EE) dos compostos bioativos

O valor do carregamento das partículas, expresso em mg EAG / mg partícula, e a respectiva eficiência de encapsulação dos compostos bioativos do coração e da casca do ananás apresentam-se nas tabelas 11 e 12, respectivamente.

**Tabela 11** – Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação dos compostos bioativos do coração de ananás.

Amostras	Carregamento de Partículas	EE (%)
A <sub>1</sub>	0,252 mg EAG / mg partícula	7,2
A <sub>2</sub>	0,223 mg EAG / mg partícula	4,1
A <sub>3</sub>	0,296 mg EAG / mg partícula	5,5
A <sub>4</sub>	0,277 mg EAG / mg partícula	5,7

**Tabela 12** - Carregamento das partículas e eficiência de encapsulação dos compostos bioativos da casca de ananás.

Amostras	Carregamento de Partículas	EE (%)
A <sub>1</sub>	0,555 mg EAG / mg partícula	12,0
A <sub>2</sub>	0,278 mg EAG / mg partícula	6,0
A <sub>3</sub>	0,482 mg EAG / mg partícula	9,8
A <sub>4</sub>	0,454 mg EAG / mg partícula	10,0

A incorporação dos compostos bioativos nas partículas foi mais eficiente na amostra A<sub>1</sub>, tanto para o coração (7,2 %) como para a casca (12,0 %).

É de notar que o valor do carregamento de partículas das amostras da casca é ligeiramente superior ao valor das amostras do coração, sendo que o extrato da casca também apresenta teores de compostos fenólicos superiores ao extrato do coração de ananás.

### 4.3.3. Determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante antes e após encapsulação

Nas tabelas 13 e 14 estão apresentados os resultados da determinação dos compostos fenólicos totais pelo método direto por espectrofotometria e pelo método Folin-Ciocalteu e a avaliação da atividade antioxidante com base na captura do radical livre de DPPH (método DPPH) e na capacidade de redução do ferro (método FRAP) relativamente aos extratos líquidos do coração e casca de ananás e das partículas produzidas por *spray drying* de acordo com o desenho fatorial ( $A_1 - A_4$ ).

**Tabela 13** – Resultados dos métodos direto, Folin, DPPH e FRAP antes e após encapsulação para o coração.

Métodos	M.Direto (mg EAG / g extrato seco)	Folin (mg EAG / g extrato seco)	DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g extrato seco)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g extrato seco)
EX	2,95 $\pm$ 0,01	4,52 $\pm$ 0,37	23,52 $\pm$ 1,70	67,61 $\pm$ 2.04
			DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)
			7972,22 $\pm$ 1,70	22917,82 $\pm$ 2.04
SD	M. Direto (mg EAG / g partícula)		DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)
A <sub>1</sub>	251,66 $\pm$ 0,01		326,78 $\pm$ 16,00	210,87 $\pm$ 83,70
A <sub>2</sub>	222,82 $\pm$ 1,25		407,06 $\pm$ 47,6	254,51 $\pm$ 47,40
A <sub>3</sub>	295,96 $\pm$ 5,07		284,76 $\pm$ 21,6	203,46 $\pm$ 37,20
A <sub>4</sub>	276,73 $\pm$ 8,22		315,64 $\pm$ 8,34	174,65 $\pm$ 9,44

**Tabela 14** - Resultados dos métodos direto, Folin, DPPH e FRAP antes e após encapsulação para a casca.

Métodos	M.Direto (mg EAG / g extrato seco)	Folin (mg EAG / g extrato seco)	DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g extrato seco)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g extrato seco)
EX	4,11 $\pm$ 0,01	9,65 $\pm$ 0,38	31,95 $\pm$ 2,84	102,90 $\pm$ 2,00
			DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)
			7773,19 $\pm$ 2,84	25036,19 $\pm$ 2,00
SD	M. Direto (mg EAG / g partícula)		DPPH ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)	FRAP ( $\mu$ mol Trolox/ g EAG)
A <sub>1</sub>	555,09 $\pm$ 1,25		214,72 $\pm$ 1,88	144,81 $\pm$ 1,40
A <sub>2</sub>	277,57 $\pm$ 2,61		144,90 $\pm$ 19,70	164,76 $\pm$ 21,80
A <sub>3</sub>	481,95 $\pm$ 4,03		165,64 $\pm$ 0,67	165,27 $\pm$ 7,77
A <sub>4</sub>	454,36 $\pm$ 15,10		140,64 $\pm$ 18,70	172,48 $\pm$ 28,00

Numa primeira fase do trabalho, os extratos foram avaliados diretamente a 280 nm no seu conteúdo em compostos fenólicos. Os resultados, expressos em equivalente de ácido gálico, foram 2,95 e 4,11 mg ácido gálico / g extrato seco para o coração e casca, respetivamente. Os extratos foram ainda avaliados pelo método Folin-Ciocalteu e os resultados foram 4,52 e 9,65 mg ácido gálico / g extrato seco para o coração e casca, respetivamente. Infante *et al.* (2013) determinou o teor de compostos fenólicos totais pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu a um extrato aquoso de mistura de casca e coração de ananás e obteve resultados na ordem de 2,40 mg EAG / g extrato seco. A ligeira diferença de resultados pode ser explicada por variações na maturidade, variedade, origem geográfica e condições de colheita do fruto. Segundo Oliveira *et al.* (2009), o reagente de Folin-Ciocalteu, apesar de muito utilizado, pode provocar alterações no conteúdo em

compostos fenólicos, sendo que a junção de ácido ascórbico com ácido gálico, em diferentes proporções, provocou um aumento da absorvância.

O total de compostos fenólicos das partículas contendo extrato de coração varia entre 222 e 295 mg EAG / g partícula e para as partículas encapsuladas com extrato de casca entre 277 e 555 mg EAG / g partícula.

A atividade antioxidante foi avaliada por dois métodos distintos (DPPH e FRAP) antes e após encapsulação dos extratos e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol Trolox/g EAG}$ . Comparando os resultados, verificou-se uma diminuição acentuada dos valores após a encapsulação para ambos os métodos. Este fato não se deve unicamente à perda da capacidade antioxidante das partículas com o processo de secagem por *spray drying*, mas também pelo baixo rendimento de secagem obtido, o que origina perdas não só de material de parede mas também de compostos fenólicos, responsáveis pela atividade antioxidante.

## Capítulo 5 – Conclusões e Trabalho Futuro

---

Neste trabalho foram microencapsulados por *spray drying* os compostos bioativos presentes nos extratos otimizados de coração e casca de ananás.

As condições ótimas da extração aquosa dos compostos bioativos foram estabelecidas de modo a maximizar o grau de extração dos compostos fenólicos, sendo a razão matéria prima-solvente na ordem de 1:6 e um tempo de extração de 25 minutos.

Tal como era previsto, existem nas cascas compostos fenólicos em maior quantidade do que no coração do ananás.

Do estudo do processo de microencapsulação por *spray drying*, utilizando como variáveis independentes a temperatura do ar de entrada e a concentração de maltodextrina, concluiu-se que as condições ótimas do processo foram alcançadas com uma temperatura do ar de entrada a 150°C e uma concentração de 25% em maltodextrina.

A microencapsulação por *spray drying* foi realizada com sucesso, sendo produzidas micropartículas esféricas e lisas com um tamanho médio inferior a 10 µm para todas as formulações de coração e casca de ananás. Contudo, não foi possível estabelecer uma relação entre a variação das variáveis independentes e o tamanho das partículas.

Às micropartículas obtidas foi avaliada a sua atividade antioxidante através dos métodos DPPH e FRAP, verificando-se uma diminuição da capacidade antioxidante destas em relação aos extratos. Este resultado poderá estar relacionado com o próprio processo de encapsulamento e/ou devido a alterações do perfil fenólico durante o processo de *spray drying*.

De acordo com o que foi desenvolvido neste trabalho, propõem-se para uma futura investigação os seguintes tópicos:

- Avaliar o perfil fenólico antes e após encapsulação através da técnica da Cromatografia de Líquidos ou HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*);
- Utilizar diferentes solventes para a extração de compostos bioativos;
- Estudar outra matriz de encapsulação a fim de melhorar a retenção dos compostos bioativos;

- Testar a incorporação das micropartículas produzidas em sistemas alimentares e avaliar o perfil de liberação.

## Referências Bibliográficas

---

Abdullah (2007). Solid and Liquid Pineapple Waste Utilization for Lactic Acid Fermentation using *Lactobacillus delbrueckii*. *Reactor*, 11(1): 50-52.

Azmir, J. Zaidul, M., Rahman, M., Sharif, M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, A., Ghafoor, K., Norulaini, N. & Omar, M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117: 426-436.

Ayla-Zavala, F., Vega-Vega, V., Rosas-Dominguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, A., Wasim Siddiqui, Md., Dávila-Avina, E & Gonzalez-Aguilar, A. (2011). Agro-Industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44: 1866-1874.

Bartolomé, P., Rupérez, P. & Fúster, C. (1995). Pineapple fruit: morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chemistry*, 53: 75-79.

Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I., Rawal, R. & Pande, V. (2016). Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 207: 115–124.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11): 317-333.

Broinizi, P., Andrade-Wartha, E., Silva, A., Novoa, A., Torres, R., Azeredo, H., Alves, R. & Mancini-Filho, J. (2007). Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.) *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4): 902-908.

Carmona-Jiménez, Y., García-Moreno, V., Igartuburu, M. & Barroso, G. (2014). Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry* 165, 198-204.

Couto, M. & Canniatti-Brazaca, S. (2010). Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1): 15-19.



Dias, M., Camões, M. & Oliveira, L. (2009). Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113: 808-815.

Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. & Hornero-Méndez, D. (2012). Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, 46: 438-450.

Gabas, L., Telis, N., Sobral, A. & Telis-Romero, J. (2007). Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, 82: 246-252.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40: 1107-1121.

Giada, M. (2013). Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and their Antioxidant Power. *InTech*, 4: 87-112.

Gimeno C, Seguí L. & Fito P. (2010). Valorisation of Industrial Pineapple Residues: Bromelain Separation Followed by Bioethanol Fermentation. *International Conference on Food Innovation*.

Gonzalez-Aguilar, G., Robles-Sanchez, R., Martinez-Tellez, M., Olivas, G., Alvarez-Parrilla, E., & de la Rosa, L. (2008). Bioactive compounds in fruits: Health benefits and effect of storage conditions. *Stewart Postharvest Review*, 4(3): 1-10.

Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 330-347.

Guimarães, R., Barros, L., Barreira, M., Sousa, J., Carvalho, M. & Ferreira, R. (2010). Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 99-106.

Hajar, N., Zainal, S., Nadzirah, Z., Siti Roha, M., Atikah, O. & Tengku Elida, M. (2012). Physicochemical Properties Analysis of Three Indexes Pineapple (*Ananas Comosus*) Peel Extract Variety N36. *APCBEE Procedia*, 4: 115-121.

Hashib, S., Rahman, N., Suzihaque, H., Ibrahim, U. & Hanif, N. (2015). Effect of Slurry Concentration and Inlet Temperature towards Glass Temperature of Spray Dried Pineapple Powder. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 195: 2660-2667.

- Hossain, A. & Rahman, M. (2010). Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International*, 1–7.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Infante, J., Selani, M., Toledo, N., Silveira-Diniz, M., Alencar, S. & Spoto M. (2013). Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. *Journal Food Nutricion*, 24(1): 87-91.
- Jittanit, W., Niti-Att, S. & Techanuntachaikul, O. (2010). Study of spray drying of pineapple juice using maltodextrin as an adjunct. *Journal Science*, 37(3):498-506.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1): 11–19.
- Karakaya, S. (2004). Bioavailability of Phenolic Compounds. Critical Review. *Food Science. Nutricion*, 44: 453-64.
- Kareem S., Akpan I. & Alebiowu O. (2010). Production of Citric Acid by *Aspergillus niger* using Pineapple Waste. *Malaysian Journal of Microbiology*, 6(2): 161-165.
- Larrauri, A., Rupérez, P. & Calixto, S. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 4028–4031.
- Lopez-Rubio, A., Gavara, R. & Lagaron, M. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 567-575.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, A., Figueroa, G., Pérez-Álvarez, A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fiber concentrate. *Food Chemistry*, 135(3): 1520–1526.
- Matté, G. & Rosa, S. (2013). A tecnologia da microencapsulação através das microesferas de quitosana. *Revista iberoamericana de polímeros*, 14(5): 206-218.
- Medina, J. and García, H.S. (1999). Pineapple post-harvest operations. Instituto Tecnológico de Veracruz. In *Compendium on Post-harvest Operations*, D. Mejía (ed.), Post-harvest Management Group AGSI-FAO, Rome. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-ax438e.pdf>. Último acesso: Setembro, 2016.
- Melo, E., Maciel, M., Lima, V. & Nascimento, R. (2008). Capacidade antioxidante de frutas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(2): 193-201.

Mhatre, M., Nagi, L., & Ganapathi, T. R. (2009). Agrobacterium-mediated transformation of pineapple (*Ananas cosmosus* L. Merr.) leaf bases with MSI-99, a magainin analogue. *International Journal of Fruit Science*, 9: 1–9.

Mhatre M., Tilak-Jain, J., De, S. & Devasgavam, A. (2009). Evaluation of the antioxidant activity of non-transformed and transformed pineapple: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2696–2702.

Microencapsulação (2013). *Food Ingredients Brasil*, 25.

Morton, J. (1987). Pineapple. In *Fruits of warm climates*. J. F. Morton (ed.), pp. 18–28. Miami, FL. Disponível em: <https://hort.purdue.edu/newcrop/morton/pineapple.html#Storage>. Último acesso: Setembro, 2016.

Oliveira, A., Valentim, I. & Goulart, M. (2009). Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32(3): 689-702.

Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4306.

Py, C. (1969). *La Pina tropical*. Editorial Blume, Barcelona, 278.

Ray, S., Raychaudhuri, U. & Chakraborty, R. (2016). An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*, 13: 76-83.

Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of Enology. The chemistry of wine stabilization and treatments (Vol. 2)*. West Sussex-UK: John Wiley and Sons Ltd.: 129-184.

Rico, D., Martín-Diana, B., Barat, M. & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 373-386.

Rocha, A., Fávaro-Trindade, S. & Grosso, F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, 90: 37-42.

Rosa, J., Godoy, R., Neto, J., Campos, R., Matta, V., Freire, C., Silva, A. & Souza, R. (2007). Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia

líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4): 837-846.

Rufino M., Alves R., Brito E., Moraes S., Sampaio C., Jimenez J. & Calixto F. (2007). Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico Embrapa*, 127: 1-4.

Samson J.A. (1986). *Tropical Fruits*. USA, Longman Inc. New York.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación: presencia en alimentos y consumo: biodisponibilidad y metabolismo. *Alimentaria*, 329: 19-28.

Schieber, A., Stintzing, C. & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 401-413.

Selani, M., Shirado, G., Margiotta, G., Rasera, M., Marabesi, A., Pierdade, S., Contreras-Castillo, C. & Canniatti-Brazaca, S. (2016). Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat Science*, 115: 9-15.

Silva A., Sobral A. & Kieckbusch, G. (2006). Pulp with and without Maltodextrin Addition, *Journal Food Engeneering*, 77(3): 426-432.

Sousa, C., Silva, H., Vieira-Jr, M., Ayres, M. & Costa, C. (2007). Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. *Quim Nova*, 30: 351-355.

Sousa, M., Vieira, L., Silva, M. & Lima, A. (2011). Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(3): 554-559.

Souza, C., Schiavetto, I., Thomazini, F. & Oliveira, W. (2008). Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spouted bed dryers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 25(1).

Spínola, V., Llorent-Martínez, E. & Castilho, P. (2014). Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. *Journal of Chromatography A*, 1369: 2-17.

Su, L., Fu, Y., Zhang, Y., Wang, M., Wang, H., Wang, C. & Zhang, J. (2008). Microencapsulation of *Radix salvia miltiorrhiza* nanoparticles by spray-drying. *Powder Technology* 184: 114-121.

Suzihaque, M., Hashib, S & Ibrahim, U. (2015). Effect of Inlet Temperature on Pineapple Powder and Banana Milk Powder. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 195: 2829-2838.

Tran, V. (2006). Chemical analysis and pulping study of pineapple crown leaves. *Industrial Crops and Products*, 24: 66-74.

Uenojo, M., Junior, M. & Pastore, G. (2007). Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Quim Nova*, 30(3)

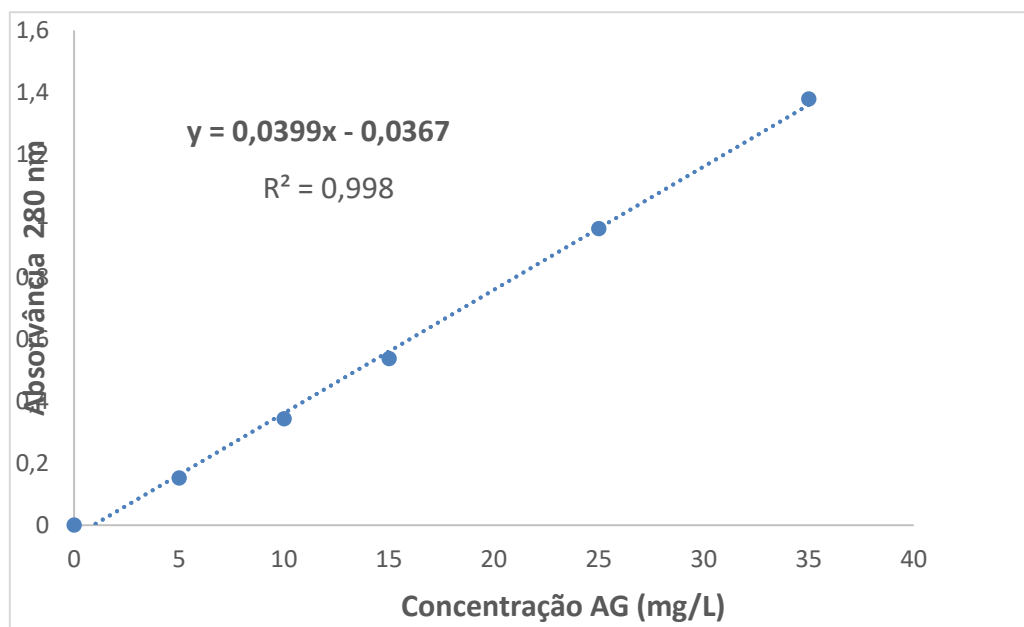
Wong, C., Pui, L. & Ng. J. (2015). Production of spray-dried Sarawak pineapple (*Ananas comosus*) powder from enzyme liquefied puree. *International Food Research Journal*, 22(4): 1631-1636.

Yuris, A. & Siow, L. (2014). A Comparative Study of the Antioxidant Properties of Three Pineapple (*Ananas comosus* L.) Varieties. *Journal of Food Studies*, 3: 2166-1073.

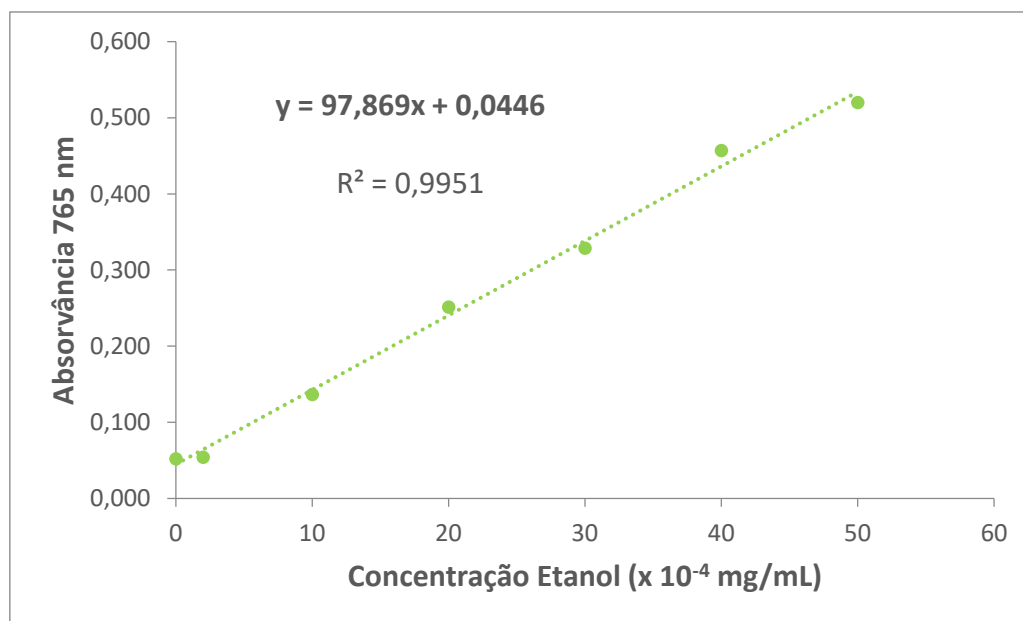
# ANEXOS

---

**Anexo I. Reta de calibração para a quantificação dos fenóis totais e do carregamento em compostos bioativos das partículas**

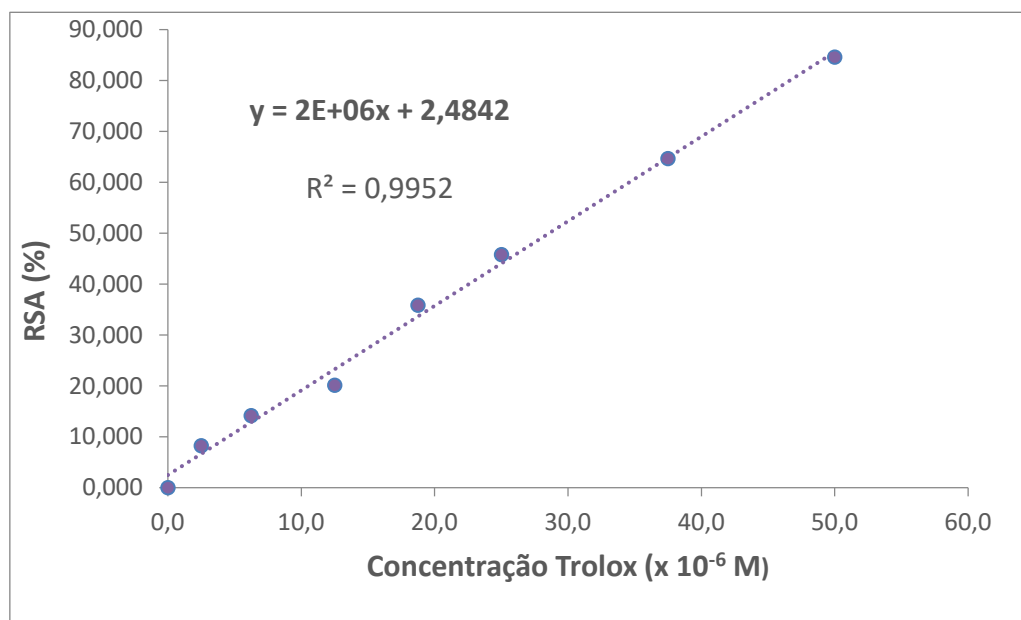


## Anexo II. Reta de calibração para o método Folin

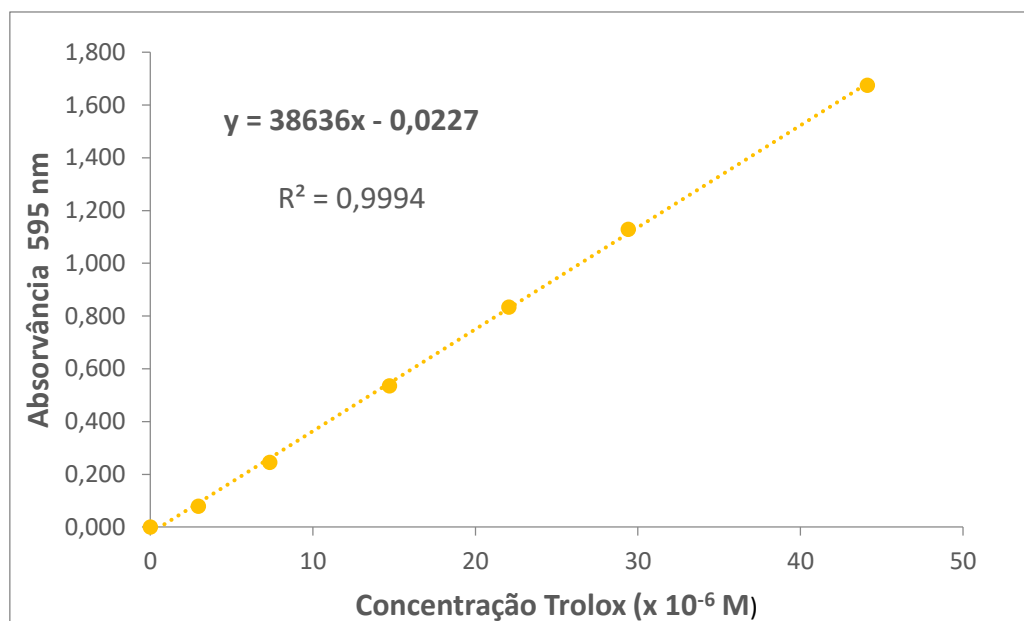




### Anexo III. Reta de calibração com o Trolox para o método DPPH



#### Anexo IV. Reta de calibração com o Trolox para o método FRAP



**Anexo V. Desenho experimental para o coração de ananás**

Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes				
Fatores			Respostas				
Tempo (min)	M <sub>solvente</sub> (g)		EAG (mg/g)	SST (°Brix)	Cor		
					L	C*	h°
1	39	160	1,5	2,9	47,5	9,8	89,8
2	25	440	2,4	1,9	51,3	6,0	88,6
3	25	160	1,6	3,0	52,5	6,8	90,7
4	11	440	2,5	1,7	50,3	8,6	90,5
5(C)	25	300	2,5	2,2	55,8	3,6	95,6
6(C)	25	300	2,5	2,1	56,5	3,5	95,0
7	45	300	2,1	1,8	53,3	5,5	89,5
8	5	300	2,0	1,9	53,5	5,5	89,1
9	11	100	1,7	4,9	51,7	8,6	92,7
10	25	500	2,9	1,7	53,3	5,1	87,9
11(C)	39	300	2,3	2,3	57,4	3,7	91,6
12(C)	25	300	2,3	2,3	57,7	3,7	93,3

**Anexo VI. Desenho experimental para a casca de ananás**

	Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes				
	Fatores		Respostas				
	Tempo (min)	M <sub>solvente</sub> (g)	EAG (mg/g)	SST (°Brix)	Cor		
					L	C*	h°
1	39	160	1,6	3,0	50,6	10,5	91,3
2	25	440	1,6	3,0	51,3	8,7	90,4
3	25	160	2,6	2,9	47,6	10,3	84,1
4	11	440	4,3	1,8	50,8	9,6	90,6
5(C)	25	300	3,1	1,9	57,2	3,6	92,1
6(C)	25	300	3,2	1,9	56,5	3,7	87,5
7	45	300	2,9	1,9	51,7	6,6	91,8
8	5	300	3,6	2,2	50,8	9,5	89,9
9	11	100	2,0	3,9	49,6	11,1	90,4
10	25	500	4,1	1,3	53,0	7,5	88,9
11(C)	39	300	3,2	1,9	57,8	4,0	92,6
12(C)	25	300	3,0	1,9	53,5	3,7	93,3